Université de Paris — Faculté de Pharmacie

Année 1970 Série U - N° 488

THÈSE

présentée

à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris

Pour l'obtention du titre de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE PARIS
(Diplôme d'Université - Mention Pharmacie)

par

Margarita SENTIS VILALTA épouse BLANCO FERNANDEZ

REPARTITION ET VARIATIONS ONTOGENETIQUES DE L'HISTIDINE CEREBRALE

Ses effets sur l'Histamine sous l'action de quelques agents pharmacologiques

Soutenue le

JURY : MM. P. MALANGEAU
J.R. BOISSIER
M. GUERNET

Université de Paris — Faculté de Pharmacie

Année 1970 Série U - N° 488

THÈSE

présentée

à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris

Pour l'obtention du titre de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE PARIS
(Diplôme d'Université - Mention Pharmacie)

par

Margarita SENTIS VILALTA épouse BLANCO FERNANDEZ

REPARTITION ET VARIATIONS ONTOGENETIQUES DE L'HISTIDINE CEREBRALE

Ses effets sur l'Histamine sous l'action de quelques agents pharmacologiques

---

Soutenue le

JURY : MM. P. MALANGEAU
J.R. BOISSIER
M. GUERNET

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

M.	QUEVAUVILLER A.	.....	Doyen, Président du Conseil transitoire de Gestion
M.	GUIGNARD J-L.	.....	Assesseur
M.	RODINEAU L.	+	Secrétaire Général
Mme	FERRARI S.	.....	Attaché Principal d'Administration Universitaire Adjointe au Secrétaire Général
M.	BRENN A.	+	Attaché Principal d'Intendance Universitaire
M.	JEANDEL L.	.....	Attaché d'Administration Universitaire
M.	JACOB A.	+	Attaché d'Administration Universitaire.
Mlle	FRIZOL E.	.....	Attaché d'Administration Universitaire.

DOYENS HONORAIRES

M. VALETTE Guillaume O +
M. MALANGEAU Pierre

PROFESSEURS HONORAIRES

M.	LAUNOY L.	.....	O +
M.	FLEURY P.	.....	O +
M.	PICON M.	.....	O +

PROFESSEURS

M.	JANOT M-M.	O + Membre de l'Institut ..	Pharmacie galénique (T)
M.	VALETTE G.	O + ...	Pharmacodynamie (T)
M.	PARIS	O + ...	Matière médicale (T)
M.	GUILLOT M.	O + ...	Physique (T)
M.	GAUTIER J-A.	O + ...	Chimie organique (T)
Mlle	LAMBIN S.	+	Microbiologie (T)
M.	RAOUL Y.	+	Physiologie (T)
M.	COURTOIS J.	+	Chimie biologique (T)
M.	DOMANGE L.	0 + ...	Chimie générale et minérale (T)
M.	TRUHAUT R.	C + Membre de l'Institut..	Toxicologie et Hygiène (T) Industrielle (T)
M.	MORETTE A.	+	Hydrologie (T)
M.	CAVIER R.	+	Parasitologie (T)

M.	QUEVAUVILLER A.	+	Hygiène et Education sanitaire (T)
M.	MOREAU R.	+	Microbiologie (T)
M.	PIETTE M.	+	Hématologie (T)
M.	MALANGEAU P.	.....	Chimie analytique (T)
M.	GIRARD M.	+	Biochimie appliquée (T)
M.	DILLEMANN G.	.....	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)
M.	DEYSSON G.	+	Botanique (T)
M.	FLAHAUT J.	.....	Minéralogie (T)
M.	RENAULT J.	.....	Chimie organique (T)
M.	LE HIR A.	.....	Pharmacie galénique (T)
M.	BOUDENE C.	.....	Toxicologie et Hygiène industrielle (T)
M.	LARUELLE P.	.....	Physique (T)
M.	ROSSIGNOL P.	.....	Pharmacodynamie (T)
M.	MANGEOT A.	.....	Pharmacie galénique industrielle (T)
M.	DELAVEAU P.	.....	Séméiologie et Pathologie générale (T)
M.	COHEN Y.	.....	Pharmacodynamie (T)
M.	RENAULT H.	.....	Physique (T)
M.	BOURDON R.	.....	Chimie analytique (T)
M.	REYNAUD P.	.....	Pharmacie chimique (T)
M.	LE MOAN R.	.....	Toxicologie
M.	POISSON J.	.....	Pharmacie galénique (T)
M.	MICHEL R.	.....	Endocrinologie (T)
M.	LECLERC M.	.....	Hématologie
M.	PERCHERON F.	.....	Chimie biologique
M.	SAVEL J.	.....	Biologie animale
M.	DESVIGNES A.	.....	Cryptogamie et Technique bactériologique
M.	MIOCQUE M.	.....	Chimie organique

MAITRES DE CONFERENCES

M.	PAOLETTI C.	.....	Toxicologie (T)
M.	BORY J.	.....	Microbiologie (T)
M.	GUIGNARD J-L.	.....	Botanique générale (T)
M.	GOUNELLE J-C.	.....	Physiologie (T)
M.	BINET P.	.....	Biologie animale (T)
M.	COMBET-FARNOUX C.	.....	Chimie organique (T)
M.	PLAT M.	.....	Chimie analytique (T)
Mme	PLAT M.	.....	Législation et Déontologie pharmaceutique (T)
M.	DELACOUX E.	.....	Pharmacie chimique (T)
M.	CAVE A.	.....	Matière médicale (T)
M.	PUISIEUX F.	.....	Pharmacie galénique (T)
M.	DUCHON d'ENGENIERES	M.	Chimie organique (T)
M.	ADOLPHE C.	.....	Physique (T)
M.	GUERNET M.	.....	Chimie analytique (T)
M.	DIDRY J.	.....	Mathématiques appliquées aux Sciences expérimentales (T)
M.	KHODADAD P.	.....	Chimie minérale (T)
M.	PERLES R.	.....	Chimie biologique (S)
M.	LEMONNIER A.	.....	Biochimie appliquée (S)
M.	YONGER J.	.....	Chimie analytique (S)

M.	HAMON M.	Chimie analytique (S)
M.	MESTRE J.	Botanique (S)
M.	AGNERAY J.	Biologie (S)
M.	DREUX C.	Biochimie appliquée (S)
M.	RIVET J.	Chimie générale et minérale (S)
M.	ETIENNE J.	Mathématiques (S)
M.	HAZEBROUCQ G.	Physique (S)
M.	ROUSSELET F.	Biochimie appliquée (S)
M.	BOURRINET P.	Hygiène (S)
M.	SOULEAU Ch.	Chimie générale et minérale (S)
Mme	HUBERT J.	Microbiologie (délég.)
Mlle	BOURNIQUE C.	Botanique (délég.)

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

M.	GESTEAU P.	+
M.	GUERIN H.	+
Mme	HARISPE M.	
Mlle	LONGUEVALLE S.	
M.	HARISPE	+

MAITRES-ASSISTANTS et CHEFS de TRAVAUX

M.	ANDRE Guy	TP Pharmacie galénique 2-3e A (délég.)
M.	ADAM Yves	TP Pharmacie chimique 5e A (Synthèse médicaments (T)
M.	AYMARD Pierre	ED Physiologie-Histologie (T)
Mlle	BARNIER S.	Mathématiques (délég.)
Mlle	BENOIS Martine	TP Botanique 2e A. (délég.)
Mlle	BERNARD J.	TP Bactériologie 5e A Industrie (T)
M.	BESANCON Pierre	Mathématiques (S)
Mme	BLANC Jeanine	ED Chimie organique 1-2 A (T)
Mme	BONALY J.	ED Botanique 1 A. (délég.)
Mme	BOSIO A-Marie	TP Chimie qualitative (délég.)
M.	BOURLIOUX Pierre	CES Bactériologie (délég.)
M.	CAILLARD Claude	TP Pharmacodynamie 4-5 A (délég.)
M.	CANAL Jacques	ED et TP Biochimie appliquée 5 A - Biologie officine (délég.)
M.	CARRE Daniel	Mathématiques (délég.)
Mlle	CARRERE Clothilde	TP Microbiologie 4 A (T)
Mme	CENAC Jacqueline	CES Parasitologie (T)
Mme	CHARDENOT P.	Chimie biologique 3-4 A (T)
Mme	CHARPENTIER M.	ED Chimie générale et minérale 1re A. (T)
M.	CHERON J-Marie	TP Chimie biologique 3-4 A (délég.)
Mlle	CLAIR Geneviève	ED Matière médicale 3-5 A (T)
M.	DAGRON Christian	ED Chimie générale et minérale 2 A (T)
M.	DAVY Jean	CES Biochimie (délég.)
M.	DEBRAY M.	Mathématiques (délég.)
Mlle	DECAUDIN M-Thérèse	TP Parasitologie 4 A (T)
M.	DELATTRE Jacques	CES Electrochimie et TP 5 A Biologie (délég.)

M.	DELCOURT Alain	ED Botanique 2 A (délég.)
M.	DOUSSIN Alexandre	TP Chimie analytique 5 A (T)
Mlle	DUCHENE Dominique	CES Pharmacie galénique industrielle (délég.)
Mlle	DUMANT Geneviève	CES Analyse physico-chimique des médicaments (T)
Mme	DUPONT Charlotte	CES Pharmacodynamie (T)
M.	ETIENNE Guy	TP Pharmacie galénique 2-3 A (T)
Mme	FAURE Liliane	ED Chimie organique 1-2 A (T)
Mlle	FLEURY Solange	ED Chimie analytique quantitative (T)
Mlle	FOGLIETTI M-José	TP Chimie biologique 3-4 A (T)
M.	GAIRARD Alexis	CES Contrôle médicaments (biologie) (délég.)
M.	GAYRAL Philippe	TP Zoologie 1 A (délég.)
Mme	BOY Françoise	Mathématiques (délég.)
M.	GIRARDEAU J-F.	TP Chimie organique 5 A (synthèse organique) (délég.)
M.	GOBERT Jean	TP Zoologie 1 A (S)
Mlle	GOURSAT M-José	ED Botanique 1 A (T)
M.	GROSSIORD J-Louis	TP Physique 1 A (délég.)
Mlle	GUILLOUX Edith	TP Chimie biologique 3-4 A (S)
M.	HENRY Jacques	Essais médicaments chimiques et galéniques (T)
Mme	JULIEN Maud	ED Physique 2 A (T)
M.	JULIEN René	ED Chimie minérale 1 A (T)
Mlle	JUND Yvonne	CES Microbiologie et contrôle médicaments - Microbiologie (T)
M.	LALEGERIE Pierre	CES Biologie (S)
M.	LAROCHE Jacques	TP 5A - Secourisme - Hygiène Education sanitaire (T)
Mme	LEDUC Yvette	TP Chimie analytique qualitative (T)
M.	LEGENDRE Lucien	TP Chimie organique 2 A
Mme	LEGER Nicole	Parasitologie 5 A (T)
M.	LELUC Robert	CES Bactériologie (T)
M.	LEMAY René	CES Législation (T)
Mme	LE QUANG THUAN	TP Chimie analytique qualit. (S)
M.	LEVILLAIN Pierre	ED Chimie analytique qualit. (T)
Mme	LEVY Françoise	ED Botanique 2 A (délég.)
M.	LIKFORMAN Joseph	ED Physique 1 A (T)
Mlle	LONGEVIALLE M.	ED Botanique 1 A (T)
M.	MAHUZIER Georges	TP Chimie analytique quantit. (T)
M.	MANDEREAU Jean	CES Pharmacotechnie chimique (T)
M.	MANET Léon	CES Biochimie (T)
M.	MARTIN-FRERE H.	TP Chimie générale et minérale 1re A (T)
M.	MAUGUEN Yves	Mathématiques (délég.)
Mme	MAYRARGUE Joëlle	ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
Mlle	MICHELET Annick	ED Chimie générale et minérale 2 A (T)
M.	MOULIN Pierre	TP Physique 1 A (délég.)
Mme	MOURY Jacqueline	TP Zoologie 1 A (S)
Mme	NOTTEGHEM M-J.	ED Parasitologie 4 A (T)
M.	NGUYEN Phu Lich	CES Toxicologie (délég.)
Mme	PANOUSE Jacqueline	CES Microbiologie - Virologie - Immunologie (T)
Mme	PAOLAGGI Françoise	CES Electrochimie et TP 5 A Biologie (T)

M.	PESTIS Jean	.....	TP Anatomie, Physiologie humaine(T)
Mme	PIETTE Colette	.....	CES Hématologie 5 A-Biologie (T)
M.	POULLAIN Pierre	.....	CES Hématologie 5 A-Biologie (T)
M.	POUSSET J-Louis	.....	TP Chimie extractive 5 A (T)
M.	QUENEZ Pierre	.....	TP Chimie générale et minérale 1 A (T)
Mme	RABIANT Odile	.....	ED Chimie analytique qualit.(délég.)
M.	RABARON Alain	.....	CES Pharmacotechnie galénique (dél.)
Mme	ROBERT Monique	.....	CES Immunologie - Microbiologie (T)
M.	RODIER Noël	.....	ED Physique 2 A (S)
Mlle	ROLLEN Alice	.....	TP Botanique 1 A (T)
Mlle	ROUSSELET Renée	.....	Essais médicaments végétaux (T)
Mme	RUDLER Michèle	.....	ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
Mme	SALES Nicole	.....	TP Physiologie, Histologie (T)
Mlle	SEBASTIEN Francine	.....	TP Microbiologie 5 A (Biologie officine) (délég.)
M.	SCHUSTER Jean	.....	Essais des médicaments chimiques et galéniques (T)
Mlle	SORIA Claudine	.....	Biologie officine 5 A (S)
Mme	SEILLER Monique	.....	TP Pharmacie galénique industrielle (T)
Mlle	STRUPLER Nicole	.....	ED Chimie générale et minérale 1 A (T)
M.	TOUBOUL J-Pierre	.....	TP Chimie analytique 5 A (délég.)
M.	TRIEU Thuong Cong	.....	TP Chimie analytique quant. (T)
Mlle	TROUPEL Solange	.....	TP Chimie analytique quant. (S)
Mme	VAN AMERONGEN G.	.....	ED Chimie analytique quant. (Délég.)
M.	VAYSSIERE J-Michel	.....	ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
M.	VILLERS Jacques	.....	TP Physique 2 A (T)
Mme	WELBY Josette	.....	TP Pharmacie galénique (S)

BIBLIOTHEQUE

Mlle	RUYSSEN Y.	+	Conservateur en Chef
Mme	DESGRIPPES A.	.....	Conservateur
Mme	COULET M.A.	.....	Conservateur
Mlle	LANGLOIS C.	.....	Conservateur
N...		.....	Conservateur

Légion d'Honneur (+ Chevalier
(O Officier
(C Commandeur

Liste mise à jour au 15 septembre 1970.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544316_0091

A MON MARI.

A Monsieur le Doyen P. MALANGEAU

Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse, nous le prions de bien vouloir trouver ici l'assurance de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur M. GUERNET

Nous le remercions de nous avoir donné la possibilité de soutenir cette thèse. Nous avons bénéficié à chaque instant de sa compétence, de ses conseils et de sa gentillesse.

Qu'il soit certain que nos sentiments répondent au bienveillant intérêt qu'il nous a toujours prodigué.

A Monsieur le Professeur J.R. BOISSIER

Nous tenons à lui exprimer très vivement toute notre reconnaissance pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire et pour l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre admiration et notre respectueux attachement.

A Monsieur le Docteur J.P. TILLEMENT

Qui nous a fait comprendre comment la recherche et l'enseignement sont complémentaires. Qu'il soit toujours sûr de notre gratitude et de notre amitié.

A Mademoiselle A. DIEHL

Qui nous a offert son amitié et sa sympathie. Nous n'oublierons jamais l'aide qu'elle nous a apporté pendant notre travail.

A Madame M.C. BARRIT

Mademoiselle M. CAYLA

Madame D. COUDERT

Mademoiselle H. FELLER

Madame L. LE TOUZIC

Madame D. SEGRETTIN

Madame F. THENINT

A tous les Collaborateurs de Monsieur le Professeur J.R. BOISSIER qui tout au long de notre travail nous ont si gentiment offert leur amitié et leurs conseils.

Nous remercions MM. MOREAU et CHRETIEN pour l'aide apportée à la réalisation des dessins.

SOMMAIRE

Page

INTRODUCTION 1

1re PARTIE

Chapitre I : Dosage de l'Histamine cérébrale 5

A - Préparation des échantillons 5

- cerveau entier 5
- différentes régions cérébrales 5
- fractionnement par ultracentrifugation ... 7

B - Déprotéinisation 7

C - Purification et dosage de l'Histamine 8

D - Calculs 9

Chapitre II : Dosage de l'Histidine cérébrale 11

Introduction 11

A - Description de la méthode de dosage de l'Histidine 12

1 - Préparation de l'échangeur 12

2 - Description 12

B - Etude critique de la méthode de dosage de l'Histidine 13

Conclusion 17

2e PARTIE

Chapitre I : Variations ontogénétiques de l'histidine cérébrale 21

Introduction 21

A - Cerveau entier 22

Résultats 22

Discussion 25

B - Différentes régions 26

Résultats 26

Discussion 27

Chapitre II : Variations des taux cérébraux d'Histamine et d'Histidine après administration de L-histidine 31

Introduction 31

A - Variations en fonction du temps de sacrifice 31

Protocole 31

Résultats 32

Discussion 33

B - Variations en fonction de l'âge 33

Protocole 33

Résultats 33

Discussion 37

C - Variations régionales 39

Protocole 39

Résultats 39

Discussion 43

3e PARTIE

Chapitre I : Etude de l'action de quelques substances à action centrale sur les taux d'Histamine cérébrale 47

Introduction..... 47

A - β-phenylisopropylhydrazine 47

Protocole..... 47

Résultats..... 47

Discussion 49

B - Imipramine 49

Protocole..... 49

Résultats..... 49

Discussion 51

C - Morphine 51

Protocole .....

Résultats..... 51

Discussion 52

Conclusion 53

Chapitre II : Etude de l'action d'un antihistaminique (diphenhydramine) sur les taux d'Histamine cérébrale 55

Introduction..... 55

A - Variations des taux d'Histamine après administration de diphenhydramine seule ... 56

1 - Chez le rat 56

a - administration unique..... 56

b - administration chronique 56

2 - Chez le lapin..... 59

3 - Chez le cobaye 59

Discussion..... 62

B - Variations des taux d'Histamine, après administration de diphenhydramine et L-histidine associées 62

1 - Administrations successives de diphenhydramine et L-histidine 63

Protocole 63

Résultats 63

2 - Administrations successives de L-histidine et de diphenhydramine 64

a - Cerveau entier 64

Protocole 64

Résultats 64

b - Régions cérébrales 64

Protocole 64

Résultats 64

c - Histamine libre et liée 67

Protocole 67

Résultats 67

Discussion 69

CONCLUSIONS GENERALES 71

BIBLIOGRAPHIE.

oooOooo

INTRODUCTION GENERALE

La formation de toutes les amines biogènes implique la décarboxylation d'un L-α-acide aminé. En particulier, l'histamine est formée par décarboxylation de l'histidine.

Cette amine se trouve dans le tissu nerveux, particulièrement dans les sous fractions riches en terminaisons nerveuses (67) ; ce tissu présente une activité histidine décarboxylase.

Au niveau cérébral, la localisation subcellulaire de cette amine, la présence de ses catabolites (89) (121) et sa répartition non homogène (11) d'une part, ses propriétés neurotropes (68) d'autre part, ont permis à divers auteurs (41) (67) (74) de considérer l'histamine comme un éventuel neurotransmetteur : GREEN (41), dans une revue générale envisage cette possibilité et résume en particulier les données sur les rapports entre la schizophrénie et le métabolisme de l'histamine.

Mais l'histamine pourrait avoir, au niveau cérébral, un rôle non directement lié à la neurotransmission : la régulation de la microcirculation et de la perméabilité capillaire (théorie de SCHAYER) (64). Les modifications des concentrations ioniques produites par l'histamine dans les différents compartiments tissulaires (27) (42) pourraient expliquer ces différentes fonctions attribuées à cette amine. En particulier, la transmission nerveuse met en jeu les variations de l'équilibre ionique entre les différents compartiments tissulaires.

KAHLSON et coll. (64) démontrent une formation d'histamine très rapide dans tous les processus de régénération ou de prolifération. L'histamine cérébrale passe par un maximum au cours du développement. Ceci pourrait être en faveur de l'hypothèse d'un rôle de l'histamine cérébrale non directement lié à la neurotransmission.

La capacité du tissu nerveux à former de l'histamine a été démontrée aussi bien "in vitro" (59) (104) (120) que "in vivo" (123). Il existerait une histidinedécarboxylase spécifique, mais d'autres décarboxylases (DOPA et 5-HTP décarboxylases) pourraient être capables de décarboxyler l'histidine (71).

Les études sur la capacité de formation de l'histamine et sur la caractérisation et la localisation des enzymes responsables de la formation de l'amine au niveau cérébral, sont très peu nombreuses.

D'autre part, la plupart des études sur les acides aminés cérébraux ne font pas mention de l'histidine (58) (80) (82). Cet acide aminé ainsi que quelques peptides imidazoliques pourraient être en rapport avec certaines maladies mentales (85) (105) (116).

Il nous a donc semblé intéressant dans ce travail d'étudier "in vivo" les relations entre l'histamine et l'histidine, particulièrement pendant l'ontogénèse.

Dans les tissus pour lesquels l'histamine n'est pas principalement d'origine mastocytaire, comme dans le cerveau, la teneur en histamine est difficilement modifiable par l'action des agents pharmacologiques possédant une action sur l'histamine mastocytaire (2).

Très peu d'études ont été effectuées sur les éventuelles modifications de l'histamine cérébrale sous l'influence des antihistaminiques (2) (39). Certaines de ces substances possèdent une action centrale (88). Elles sont capables de libérer "in vitro" l'histamine contenue dans les mastocytes.

Nous avons étudié l'action d'un antihistaminique (la diphenhydramine) aussi bien sur les taux d'histamine cérébrale que sur sa répartition et sa localisation avec ou sans administration préalable de L-histidine.

Ce travail sera donc divisé en trois parties :

- la première partie expose les techniques utilisées, en particulier la mise au point d'un dosage chimique de l'histidine.

- la deuxième partie concerne l'étude des relations histidine-histamine : la distribution régionale, les variations ontogénétiques de cet acide aminé et les modifications qu'apporte son administration sur les taux cérébraux d'histamine et d'histidine.

- dans la troisième partie, sont étudiées les modifications de l'histamine cérébrale par des agents pharmacologiques d'action centrale : morphine, imipramine, β-phenylisopropylhydrazine et particulièrement diphenhydramine.

1re PARTIE

Dans la première partie, nous décrirons les techniques utilisées au cours de ce travail.

Ces techniques portent principalement sur le dosage de l'histamine et de l'histidine cérébrales. Le dosage de l'histamine est effectué suivant une méthode déjà décrite (12).

Dans le but d'étudier les rapports entre l'histamine et l'histidine il nous a semblé nécessaire de mettre au point un dosage de cet acide aminé pouvant s'effectuer en même temps que celui de l'amine, à partir d'un même échantillon tissulaire. La description et l'étude critique de ce dosage feront l'objet du deuxième chapitre.

CHAPITRE I

DOSAGE DE L'HISTAMINE

INTRODUCTION

Le dosage de l'histamine cérébrale a été effectué au niveau du cerveau entier, au niveau des différentes régions cérébrales et après fractionnement du tissu par ultracentrifugation.

Les techniques de préparation de ces échantillons ainsi que le dosage de l'histamine feront l'objet du premier chapitre.

A. PREPARATION DES ECHANTILLONS

I. - Cerveau entier

Les animaux sont pesés et sacrifiés par décapitation. La peau de la calotte crânienne est retirée. Les ciseaux sont introduits dans l'orifice médullaire, le découpage suit le bord externe de l'os temporal. La calotte crânienne est retirée. A l'aide d'une canule le cerveau est prélevé et déposé sur une plaque réfrigérée (0°, 4° C).

Le temps compris entre la mort de l'animal et le dépôt du cerveau sur la plaque réfrigérée ne doit pas dépasser 30 secondes. La température du tissu ne doit pas dépasser 4°C pendant toutes les opérations ultérieures.

Les cerveaux sont ensuite pesés et homogénéisés. Pour une utilisation ultérieure, la conservation doit être effectuée à -24°C.

Cette technique de sacrifice de l'animal et de prélèvement entraîne la plus faible contamination sanguine (115).

II. - Différentes régions cérébrales.

La dissection du cerveau qui s'effectue sur la plaque réfrigérée ne doit pas durer plus de 3 minutes. Nous utilisons la technique

décrite par GLOWINSKI et IVERSEN (34) ; sept régions (éventuellement huit) peuvent être obtenues :

1 - Cervelet : le cervelet est séparé du reste du cerveau par section des pédoncules cérébelleux.

2 - Tronc cérébral : le tronc cérébral est isolé par section des pédoncules cérébraux, puis séparé du reste du cerveau par section à la limite des corps mamillaires et de l'hypothalamus. La dénomination "tronc cérébral" désigne l'ensemble constitué par le bulbe, la protubérance annulaire et le mésencéphale (le thalamus étant exclu).

Cette région peut être séparée en deux parties par une section verticale immédiatement en arrière des tubercules quadrijumeaux aboutissant sur la face ventrale en avant de la protubérance annulaire. Nous appelerons "cerveau moyen" la partie antérieure (mésencéphalique) et "bulbe" la partie postérieure.

3 - Hypothalamus : l'hypothalamus est isolé par section dans un plan vertical allant du chiasma optique à la commissure antérieure, le plan horizontal étant représenté par le toit du 3e ventricule.

4 - Hippocampe : l'hémisphère est posé sur sa face latérale : à l'aide d'une pince introduite dans le troisième ventricule, l'hippocampe situé le long du bord postérieur du cortex est prélevé après déroulement.

5 - Thalamus : une fois l'hippocampe prélevé, le thalamus apparaît sous forme d'une masse arrondie aisément séparable du pallidum sous-jacent.

6 - Corps striés : les corps striés sont séparés du cortex en prenant comme limite en profondeur le corps calleux. La dénomination "corps striés" désigne l'ensemble constitué par le noyau caudé, le putamen et le pallidum.

7 - Cortex : il comprend la substance blanche (corps calleux) et la substance grise corticale.

Comme pour les cerveaux entiers, les régions peuvent être utilisées ou bien conservées à - 24°C.

La dissection utilisée permet l'obtention de régions faciles à différencier anatomiquement, gardant une unité fonctionnelle. Elle peut être effectuée en un temps assez court (2 à 3 minutes). La reproductibilité peut être objectivée par la faible dispersion des poids des différentes régions : inférieure à 5 %.

III. - Fractionnement par ultra centrifugation : Histamine libre et liée.

Les cerveaux ou les différentes régions qui viennent d'être obtenus sont pesés et ensuite homogénéisés avec 5 fois leur poids de solution isotonique de saccharose (0,32 M). Les tissus conservés par congélation ne peuvent être utilisés (44).

L'homogénéisation se réalise à l'aide d'un homogénéisateur de tissu type Potter (B. Braun) avec piston de Teflon. L'homogénéisat est centrifugé à 100.000 g pendant 60 minutes à 0°, 4°C dans une ultracentrifugeuse Beckman Spinco (Rotor L50). Le culot et le surnageant sont séparés par décantation.

Le culot contient la totalité des éléments figurés (67). L'histamine dosée dans le liquide surnageant exempt d'éléments figurés sera dénommée histamine libre.

Pour une bonne reproductibilité de cette technique, il est essentiel de bien standardiser les conditions opératoires (44).

B. DEPROTEINISATION

a - Ethanolique : dans le cas du cerveau entier et des régions cérébrales

Le tissu une fois pesé est homogéinisé avec 9 fois son poids d'éthanol à 74 % (V/V).

L'homogénéisat est centrifugé à 3×10^3 g à 0° C pendant 60 mn, puis laissé au repos pendant 12 h à 0°C. Le liquide surnageant est récupéré et dilué au demi à l'aide d'eau bidistillée. 0,5 ml de solution aqueuse d'EDTA à 2 % (P/V) est ajouté. Des solutions témoins, dénommées "blancs colonne" et des solutions étalon dénommées "étalons internes" sont préparées dans des conditions identiques à partir d'un même volume d'éthanol à 74 % (V/V). Les étalons contiennent des quantités connues d'histamine introduites sous forme d'une solution de cette amine à 1 μg/ml dans l'acide chlorhydrique 0,1 N. Dans la suite, solutions témoins et dosages seront traités parallèlement d'une manière identique.

Le pH est ajusté à 6,1 (± 0,05), à l'aide d'une solution de soude 0,1 N.

b - Perchlorique : dans le cas du fractionnement en histamine libre et liée.

Après séparation du culot et du surnageant, ce dernier est additionné de la quantité d'acide perchlorique concentré (65 % soit 6 N) calculée pour obtenir une concentration finale : 0,4 N. Les tubes sont agités. Le culot est repris par l'acide perchlorique 0,4 N, il est remis en suspension et homogénéisé. Tous les tubes sont centrifugés à 3.000 g à 0°C pendant 30 mn.

Comme dans le cas de la déprotéinisation par l'éthanol, des blancs et des étalons internes sont préparés.

L'excès d'acide perchlorique est neutralisé par une solution d'hydroxyde de potassium. La plus grande partie du perchlorate de potassium précipite par repos pendant 12 heures à 0°C. Les cristaux sont éliminés par centrifugation à 3.000 g à 0°C pendant 10 mn.

Le surnageant est additionné de 0,5 ml d'une solution d'EDTA à 2 % et ajusté à pH 6,1 (± 0,05) à l'aide de soude 0,1 N.

C. PURIFICATION ET DOSAGE DE L'HISTAMINE

La purification et la séparation de l'histamine cérébrale sont effectuées selon la méthode décrite par BOISSIER et coll. (12).

Les solutions obtenues précédemment (extraits tissulaires) sont soumises à deux chromatographies successives :

Amberlite CG50 (100-200 mesh) tamponnée à pH 6,1 (± 0,05) (hauteur : 25 mm, diamètre : 4 mm) (8). Après passage des solutions à étudier, la colonne est lavée avec 5 ml d'eau bidistillée neutralisée à pH 6,1. L'élution s'effectue à l'aide de 5 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N. Les éluats recueillis quantitativement sont amenés à pH 6,0 (± 0,1) et additionnés de 20 ml de tampon phosphate 0,03 M à pH 6,0. Les solutions sont prêtes pour la chromatographie sur Cellex P.

Il est nécessaire de garder les effluents et les eaux de lavage en vue du dosage de l'histidine.

Cellex P tamponné à pH 6,0 (± 0,05) (hauteur : 40 mm, diamètre : 4 mm). (8) . Après passage des solutions préalablement purifiées par chromatographie sur Amberlite CG50, les colonnes sont lavées avec 5 ml d'eau bidistillée (pH 6,0) puis éluées par 5 ml de solution de chlorure de sodium 0,2 M. Les éluats sont recueillis quantitativement.

Il est nécessaire de garder les effluents et les eaux de lavage en vue du dosage de l'histidine.

Le dosage s'effectue en double sur 2 ml de cet éluat ; d'autre part, des blancs réactifs et des étalons externes contenant une quantité connue d'histamine sont préparés.

Le dosage est réalisé selon la technique de SHORE et coll. (107). Chaque tube est additionné de 0,2 ml de soude 1 N et de 0,05 ml de solution de O-phtalaldehyde (OPT) à 1 % (P/V) dans le méthanol. Après exactement 4 minutes de contact, 0,1 ml d'acide chlorhydrique 3 N est ajouté . Lors de l'addition de chacun des réactifs, les tubes sont agités à l'aide d'un agitateur électrique. La fluorescence est mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre Jobin Yvon, modèle Bearn, équipé d'une lampe Xenon-Mercure (longueurs d'onde : excitation 365 nm, fluorescence 450 nm).

La technique décrite permet de doser 2,5 ng/ml (soit 5 ng par prise d'essai). Les déviations enregistrées restent proportionnelles à la concentration en histamine jusqu'à environ 50 ng/ml (soit 100 ng par prise d'essai).

La sélectivité de cette méthode est très satisfaisante (8).

D. CALCULS

La quantité d'histamine présente dans l'échantillon est calculée par comparaison avec les étalons. Le rendement est vérifié, à chaque série d'expériences, par comparaison avec les étalons externes et internes. Il doit être supérieur à 80 %.

La quantité d'histamine dans l'échantillon est rapportée au poids de tissu mis en oeuvre. Les résultats sont exprimés en ng/g de tissu frais.

Le poids du tissu employé dans chaque dosage varie en fonction de la richesse du tissu en histamine.

a - Cerveau entier : un seul cerveau est utilisé pour chaque dosage.

b - différentes régions cérébrales :

- chez le rat, il est nécessaire de grouper les régions homologues provenant de deux cerveaux (pour le cortex, l'hypothalamus et le thalamus) et de six cerveaux (pour le bulbe, le cervelet, le cerveau moyen, les corps striés et l'hippocampe).

- chez le lapin, aucun groupage n'est nécessaire.

- chez le cobaye, le groupage comporte la moitié du nombre de cerveaux utilisés chez le rat.

La concentration obtenue pour chaque groupe est considérée comme un seul résultat, en vue du calcul statistique.

Pour chaque expérience, la moyenne des résultats et l'écart-type à la moyenne sont calculés.

Pour analyser comparativement deux expériences, le test de Fisher-Student est utilisé.

CHAPITRE II

DOSAGE DE L'HISTIDINE

INTRODUCTION

Le dosage de l'histidine peut être effectué par des méthodes microbiologiques (13) (54) (32), colorimétriques (75) (20) ou fluorimétriques (4) (35). Celui qui possède la plus grande spécificité est le dosage biologique. Pour les autres méthodes, une purification préalable est nécessaire permettant de rendre sélectif le dosage chimique final.

A l'heure actuelle le dosage de l'histidine se fait dans la plupart des travaux sur les acides aminés cérébraux à l'aide d'un autoanalyzeur.Celui-ci procède à une séparation des acides aminés par chromatographie sur colonne (28). Les acides aminés sont élués à l'aide d'un gradient de pH. Après traitement par la ninhydrine. Les acides aminés sont dosés par colorimétrie.

L'histidine peut aussi réagir avec l'O-phtalaldéhyde (OPT) pour donner un dérivé fluorescent : la purification de l'histamine comporte donc obligatoirement la séparation de l'histidine.

De ce fait, nous avons étudié une purification simultanée de l'histidine en fonction du dosage de l'histamine, dans le but de doser ces deux substances à partir d'un même échantillon tissulaire.

Le dosage de l'histidine est effectué après séparation, selon la méthode fluorimétrique d'AMBROSE et coll. (4) ; celle-ci procède à une condensation avec l'O.P.T., similaire à celle décrite par SHORE et coll. (101) pour l'histamine.

Dans une première partie, nous décrirons la méthode de purification et le dosage de l'histidine.

Dans un deuxième temps, nous détaillerons les expériences qui ont permis d'établir ce protocole.

A. DESCRIPTION DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'HISTIDINE

Avant de décrire cette méthode, nous détaillerons la préparation de l'échangeur utilisé dans la purification chromatographique de l'acide aminé.

1. - Préparation de l'échangeur

Après gonflement dans l'eau bidistillée, la résine Dowex 50W X 2 (100-200 mesh) est lavée par agitation dans l'eau bidistillée. Après décantation, cette eau de lavage est rejetée. Cette opération est effectuée à 30 ou 40 reprises. La résine est soumise à un lavage à l'acétone selon un protocole identique. Les lavages à l'eau bidistillée sont ensuite poursuivis jusqu'à élimination de toute trace de solvant organique.

La résine est ensuite essorée et remise en suspension dans de l'eau bidistillée. Le pH est amené à 11 à l'aide de soude 10 N (il est nécessaire de vérifier que le pH reste stable pendant environ une heure après la dernière affusion de soude). Après trois heures d'agitation, la résine est lavée à l'eau bidistillée jusqu'à obtention d'un liquide surnageant limpide présentant un pH d'une valeur constante (10,5 environ). La résine est agitée pendant une nuit dans 5 fois son poids d'acide chlorhydrique 3 N, puis essorée et séchée. Elle est ensuite lavée à l'eau bidistillée jusqu'à obtention d'un liquide surnageant clair. Le lavage se poursuit à l'aide de tampon citrate 0,2 M à pH 2,5 (± 0,1) jusqu'à ce que le surnageant présente un pH constant (2,5). La conservation s'effectue dans le tampon citrate, au réfrigérateur.

2. - Description de la méthode

Les effluents et eaux de lavage provenant de la purification de l'histamine sur Amberlite CG50 et sur Cellex P sont récupérés et rassemblés en vue du dosage de l'histidine.

Une partie aliquote de cette solution (le volume est fonction de la richesse en histidine : en général cette partie correspond à 50 % du volume initial) est acidifiée à pH 2,5 (± 0,1) à l'aide d'acide citrique 2 M. Cette acidification entraîne l'apparition d'une opalescence. Après repos à 4°C pendant 12 heures, la solution est centrifugée pendant 20 minutes à 3.000 g. Les liquides surnageants sont décantés et chromatographiés sur une colonne de Dowex 50 W X 2 (100-200 mesh, hauteur : 45 mm, diamètre : 4 mm) tamponnée à pH 2,5 (± 0,1).

Après passage des solutions, la colonne est lavée avec 5 ml de tampon citrate 0,2 M à pH 3,0 (± 0,1). L'élution s'effectue à l'aide de 10 ml de tampon citrate 0,2 M à pH 4,0 (± 0,1).

Les éluats sont recueillis quantitativement. Le dosage s'effectue en double sur 2 ml de cet éluat. D'autre part, des "blancs réactifs" et des "étalons externes" contenant une quantité connue d'histidine sont préparés.

Le dosage est réalisé selon la méthode fluorimétrique décrite par AMBROSE et coll. (4). Chaque tube est additionné de 1 ml de soude 2 N et de 0,5 ml de solution d'OPT à 0,1 % (P/V) dans le méthanol. Après 15 minutes au bain marie à 30°C, il est ajouté 1 ml de solution de pyrophosphate de sodium à 200 g/l dans l'acide phosphorique 8 M contenant 2 °/$_{oo}$ (P/V) de sulfite de sodium cristallisé.

Lors de l'addition de chacun des réactifs, les tubes sont agités à l'aide d'un agitateur électrique.

La fluorescence est mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre Jobin Yvon (modèle Bearn) équipé d'une lampe de xenon-mercure (longueurs d'onde : excitation 365 nm, fluorescence 465 nm).

La quantité d'histidine présente dans l'échantillon est calculée par comparaison avec les étalons d'histidine, suivant un protocole comparable à celui utilisé pour l'histamine.

B. ETUDE CRITIQUE DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'HISTIDINE

Nous avons soumis des solutions pures d'histidine à la purification proposée pour l'histamine, dans le but d'étudier la répartition de cet acide aminé dans les différentes solutions de lavage et dans les différents éluats.

Amberlite CG50. Des solutions pures d'histidine et d'histamine sont soumises comparativement à une chromatographie simple sur Amberlite CG50. Les deux substances sont dosées dans les effluents, les eaux de lavage et les éluats.

TABLEAU N° 1

Répartition de l'histidine après chromatographie sur Amberlite CG50.

	effluent	lavage	éluat
Histamine (100 ng/col)	-	-	93,2 ± 1,2
Histidine (25 µg/col)	12,8 ± 1,0	6,0 ± 0,2	5,6 ± 0,3

Les résultats exprimés en ng et µg sont la moyenne (± Sm) de trois expériences.

Les résultats résumés dans le tableau n° 1 montrent que l'histidine n'est fixée sur l'Amberlite CG50 qu'en très faible proportion : 78 % de l'histidine est récupérée dans les effluents et les eaux de lavage. La fraction d'histidine fixée est éluée en même temps que l'histamine.

Cellex P. Nous avons donc étudié comparativement la répartition de ces deux substances dans les effluents, eaux de lavage et éluats provenant de la chromatographie sur Cellex P.

TABLEAU N° 2

Répartition de l'histidine après chromatographie sur Cellex P

	Effluent	Lavage	Eluat
Histamine (100 ng/col)	-	-	$90,9 \pm 2,2$
Histidine (25 µg/col)	$22,8 \pm 0,2$	$1,03 \pm 0,02$	-
Histidine (6 µg/col)	$5,4 \pm 0,1$	$0,18 \pm 0,01$	-

Les résultats exprimés en ng et µg sont la moyenne (± Sm) de trois expériences.

Les résultats résumés dans le tableau n° 2 montrent que quelle que soit la quantité présente par colonne, la totalité de l'histidine est récupérée dans les effluents et les eaux de lavage.

En résumé, après passage successif sur Amberlite CG50 et Cellex P, la totalité de l'histidine se trouve répartie :

a - Dans les effluents et les eaux de lavage d'Amberlite CG50 : environ 75 %.

b - Dans les effluents et les eaux de lavage de Cellex P : environ 25 %.

Bien que l'effluent et l'eau de lavage de l'Amberlite CG50 seuls contiennent 75 % de l'histidine, il est impossible d'effectuer le dosage sur ces fractions en tenant compte du rendement. De nombreux essais ont montré que ce rendement était variable d'une expérience à l'autre, en particulier lorsqu'il s'agit d'extraits tissulaires très chargés en acides aminés et en polypeptides.

Nous avons donc été amené à réunir toutes les fractions contenant l'histidine de manière à éviter ces erreurs. Nous avons dosé cet acide aminé dans les extraits tissulaires de rat, suivant ce protocole.

Bien qu'AMBROSE et coll. (4) utilisent la réaction de fluorescence sans purification préalable dans le cas du plasma, nous avons constaté la présence de substances interférentes :

1. Les taux retrouvés sont plus forts que ceux rapportés dans la littérature après dosage microbiologique.

2. Le développement de la fluorescence donne naissance à une coloration bleu parasite.

Il a donc été nécessaire de purifier les solutions contenant l'histidine. Nous avons choisi un échangeur à caractère fortement acide. Ces échangeurs sont susceptibles de fixer les composés possédant des groupements aminés (amines ou acides aminés) ; leur utilisation comporte deux phases successives :

- fixation
- élution.

Nous avons choisi la résine DOWEX 50 W X 2 échangeur de type sulfonique. Ce type d'échangeur est utilisé habituellement dans la technique de séparation des acides aminés décrite par MOORE et STEIN (72).

L'emploi de DOWEX 50 W avec différents taux de pontages : X 2, X 4 et X 8 n'entraîne pas de modification sensible.

1. Fixation : Nous avons cherché en utilisant des solutions pures d'histidine à déterminer le pH minimum pour lequel la fixation est totale.

Sur des colonnes de DOWEX 50W X2 tamponnées à différents pH : 2,1 , 2,3 et 2,5, des solutions contenant 20 μg d'histidine dans 20 ml du même tampon citrate 0,2 M que celui ayant servi à préparer les colonnes, ont été chromatographiés. L'histidine a été dosée sur les effluents. Seules les colonnes tamponnées à pH 2,5 retiennent quantitativement l'histidine :aucune trace d'histidine n'est détectée dans les effluents.

2. Elution : Nous avons ensuite déterminé le pH minimum pour lequel l'élution est quantitative. 20 μg d'histidine ont été fixés sur une série de colonnes de DOWEX 50 W X2 tamponnée à pH 2,5. L'élution a été

effectuée à l'aide de 10 ml de tampon citrate 0,2 M à différents pH, compris entre 2,5 et 4,3. Les résultats résumés dans le tableau n° 3 montrent que l'élution quantitative de l'histidine ne s'effectue qu'à partir de pH 4.

De ces expériences, nous pouvons conclure que la séparation de l'acide aminé s'effectue dans de bonnes conditions avec un rendement supérieur à 90 %.

Sur l'éluat de DOWEX 50 W X 2 est effectué à la réaction de condensation de l'histidine avec l'OPT.

TABLEAU N° 3

Elution de l'histidine fixée sur DOWEX 50W X 2

pH	2,5	2,8	3,1	3,3	3,5	3,7	3,9	4,1	4,3
% de récupération	0	0	0	57	68	69	95	96	94

Le produit de condensation est très instable lorsque les conditions de la réaction sont celles décrites pour l'histamine. Nous avons choisi la technique de fluorescence décrite par AMBROSE et coll. (4) : elle fournit une fluorescence d'une stabilité remarquable.

La fluorescence enregistrée est proportionnelle à la quantité d'histidine présente pour des concentrations comprises entre 0,1 et 1,5 μg/ml (soit entre 0,2 et 3,0 μg par prise d'essai).

CONCLUSION

Le protocole proposé permet la séparation et la purification de l'histidine du tissu nerveux. L'échantillon doit contenir au moins 0,5 μg d'histidine (soit environ 100 mg de tissu).

Cette technique qui présente une bonne reproductibilité pour un rendement de l'ordre de 90 % permet des dosages spectrofluorimétriques en série.

2e PARTIE

La distribution régionale de l'histamine (11) (85) ainsi que les modifications de sa répartition au cours du développement ont été récemment étudiées chez le rat (8) (7) (83). Les études sur la répartition cérébrale de l'histidine sont moins nombreuses (65).

- Les taux cérébraux d'histidine rapportés dans la littérature varient d'un auteur à l'autre. Les divergences peuvent être rapportées soit à la méthode de dosage, soit aux variations physiologiques importantes en fonction de l'âge, de la souche et des conditions de nutrition de l'animal (20).

- les études de la distribution régionale sont succinctes ; en particulier KANDERA et coll. (66) et SHAW et coll. (103) se limitent à quatre régions : hémisphères, cerveau moyen, cervelet et bulbe.

- Les études effectuées au cours du développement cérébral semblent indiquer que l'histidine serait un acide aminé dont la concentration diminue au cours de l'ontogénèse (10) (3).

Ces faits nous ont amenés à étudier les variations régionales et ontogénétiques de cet acide aminé.

Nous avons essayé ensuite de déterminer les conditions dans lesquelles l'administration d'histidine pourrait provoquer une augmentation de l'histamine au niveau cérébral.

Les dosages simultanés de l'histidine et de l'histamine ont été effectués pour étudier comparativement les variations de ces deux substances.

Cette deuxième partie sera donc divisée en deux chapitres :

1° - Variations ontogénétiques de l'histidine cérébrale.

2° - Variations de l'histidine et de l'histamine cérébrales après administration de L-histidine.

CHAPITRE I

VARIATIONS ONTOGENETIQUES DE L'HISTIDINE CEREBRALE

INTRODUCTION :

Ce chapitre comporte l'étude des variations ontogénétiques de l'histidine au niveau du cerveau entier et des différentes régions.

Bien que l'histidine soit considérée comme un acide aminé essentiel chez beaucoup d'espèces, il a été démontré que chez la souris à la naissance, l'incorporation dans la molécule d'histidine, "in vivo" et "in vitro", du ^{14}C provenant du glucose était possible (125). Néanmoins il est admis d'une manière générale que l'histidine n'est pas synthétisée au niveau du tissu cérébral. Cette histidine est apportée par le plasma. Elle est utilisée dans la synthèse des protides, particulièrement des peptides imidazoliques :ces derniers pourraient avoir un rapport avec certains types de maladies mentales (85).

La dégradation en acide urocanique ou imidazolepyruvique ne semble pas intervenir au niveau du tissu nerveux (46).

L'histidine peut être transformée en histamine par l'action de l'histidine décarboxylase spécifique ou des décarboxylases d'acides aminés aromatiques (histidine décarboxylase non spécifique) (32) (46) (68). Tous ces enzymes mettent en jeu les esters phosphoriques du pyridoxal (47) (49) (96) (119). L'activité histidinedécarboxylase a été mise en évidence dans le cerveau de rat (94), souris (100), lapin (60), chat (122) (123), chien (71) et foetus humain (62) (70).

Chez le rat, l'histidinedécarboxylase cérébrale aurait des caractéristiques proches de celles de l'histidine décarboxylase spécifique (89) (95) (104).

1 - CERVEAU ENTIER

L'histidine cérébrale a été dosée chez des rats mâles (Charles River) d'âge compris entre la naissance et douze semaines (84 jours).

Chaque groupe est constitué de 12 animaux.

Résultats :

Les résultats sont résumés dans le tableau n° 4 où figurent les poids corporels et les poids cérébraux et le tableau n° 5 où figurent les concentrations en histidine et les quantités d'histidine par cerveau.

TABLEAU N° 4

Poids corporel et poids cérébral

Age	Poids corporel en g ± Sm	Poids cérébral en mg ± Sm
Naissance	5,4 ± 0,2	212,4 ± 2,6
1 jour	8,3 ± 0,2	284,4 ± 15,1
1 semaine	15,0 ± 0,4	679,4 ± 7,8
2 semaines	33,5 ± 0,9	1 330,2 ± 13,7
3 semaines	55,6 ± 2,6	1 479,0 ± 14,2
4 semaines	80,2 ± 0,8	1 558,2 ± 15,6
6 semaines	145,0 ± 4,0	1 700,0 ± 20,0
8 semaines	213,0 ± 3,0	1 853,7 ± 21,7
12 semaines	294,0 ± 7,0	1 979,0 ± 2,1

TABLEAU N° 5

Taux cérébraux d'histidine en fonction de l'âge.

Age	HISTIDINE	
	Concentration µg/g ± Sm	Quantité totale µg/cerveau.
Naissance	45,3 ± 5,0	9,62
1 jour	24,0 ± 0,8	7,28
1 semaine	20,1 ± 0,8	13,65
2 semaines	18,9 ± 0,6	25,14
3 semaines	16,0 ± 0,9	23,50
4 semaines	14,4 ± 4,0	22,43
6 semaines	8,3 ± 0,4	14,11
8 semaines	8,8 ± 0,7	16,31
12 semaines	7,6 ± 0,8	15,04
12 animaux par lot.		

Figure I : Variations du poids et de l'histidine en fonction de l'âge.

Sur la figure I, sont représentés graphiquement en fonction de l'âge :

- la concentration en histidine (en µg/g)
- la quantité totale d'histidine par cerveau (en µg/cerveau)
- le poids cérébral (en g)

. La concentration en histidine diminue en fonction de l'âge jusqu'à 6 semaines et se stabilise ensuite.

. L'histidine exprimée en quantité totale par cerveau augmente jusqu'à deux semaines, puis diminue pour se stabiliser à l'âge de six semaines.

. Le poids augmente en fonction de l'âge d'abord rapidement jusqu'à deux semaines, puis ensuite plus lentement.

Discussion

Dans une première période comprise entre la naissance et deux semaines, la diminution de la concentration en histidine est très rapide. Elle correspond à une augmentation importante du poids cerveau. Il est à remarquer que pendant cette période, poids et histidine (exprimée en quantité totale) augmentent d'une manière parallèle. Dans une deuxième période débutant à l'âge de deux semaines le poids cérébral n'augmente que lentement et la concentration en histidine continue à diminuer pour se stabiliser à l'âge de six semaines.

La concentration en histidine diminue régulièrement en fonction de l'âge, alors que la concentration en histamine augmente de la naissance jusqu'à une semaine et diminue ensuite (7) (8) (83). Il a été démontré "in vitro" que l'activité histidinedécarboxylase diminue après la naissance puis, après l'âge d'une semaine, elle augmente (104). Les modifications des taux d'histidine ainsi que de l'activité histidinedécarboxylase ne permettent pas d'interpréter les variations des taux d'histamine pendant le développement. D'autres facteurs interviendraient dans la régulation du taux cérébral de l'amine.

L'activité histidinedécarboxylase est particulièrement faible au niveau cérébral (62) (63) ; son activité "in vivo" semble conditionnée par la concentration du substrat (7) (résultats non publiés). Ce fait permettrait de penser que les fortes concentrations en histidine pourraient être une des raisons qui déterminent les fortes concentrations en histamine pendant les premiers jours de la vie post-natale.

La diminution de l'histidine au cours du développement cérébral peut être en rapport avec de nombreuses modifications observées :

- "in vitro", la pénétration de l'histidine libre dans le tissu nerveux est variable en fonction de l'âge, de la région et de la présence d'autres acides aminés (16) (29) (69).

- la synthèse protéique varie quantitativement et qualitativement (31) (37) (72) (82) : la diminution de l'histidine s'accompagne d'un ralentissement de la synthèse protéique. Ceci pourrait être en rapport :

  a - avec une fixation plus importante lorsque la concentration en protéines augmente,

  b - avec une augmentation de la participation de l'histidine dans la constitution des protéines cérébrales (9) (19).

- le métabolisme de l'histidine au niveau périphérique : l'activité de la L-histidine ammoniaque-lyase et de la L-histidine pyruvate transaminase hépatiques est variable au cours du développement (73). Des résultats partiels d'expériences en cours (travaux non publiés) semblent indiquer que les variations en cet acide aminé sont en rapport avec celles du sang.

Les taux cérébraux d'histidine seraient le résultat d'un équilibre périphérique entre l'incorporation exogène, la dégradation et la fixation dans les protéines.

2 - DIFFERENTES REGIONS

L'étude de la distribution régionale de l'histidine a été effectuée sur le cerveau de rats âgés d'une, deux et quatre semaines (24 animaux par lot). Une semaine correspond à l'âge limite en dessous duquel la dissection des différentes régions ne peut être effectuée : la dimension et la faible différenciation des régions entraînent un trop grand risque d'erreur.

Résultats

Les concentrations en µg pour chacune des régions, à chaque âge, sont consignés dans le tableau n° 6. Les variations significatives des concentrations d'une et deux semaines par rapport à quatre semaines sont mentionnées au bas du tableau.

Dans le but de faciliter la comparaison des résultats, nous avons représenté graphiquement sur la figure n° II, les poids en mg (colonnes blanches) et la quantité d'histidine en μg (colonnes noires) pour chaque région d'une part et pour le cerveau entier d'autre part.

Ce mode de représentation permet un rapprochement immédiat des variations de poids et des quantités d'histidine.

Discussion

L'hypothalamus et les corps striés sont les régions à plus forte concentration en histidine, à l'âge de quatre semaines. A cet âge la concentration de la région la plus riche (hypothalamus) est trois fois plus importante que celle de la région la plus pauvre (bulbe). Ce rapport relativement faible montre une relative homogénéité dans la répartition de cet acide aminé, par comparaison avec celle de l'histamine, où le même rapport est de l'ordre de 12 (8). Une relative homogénéité peut aussi être constatée dans les variations en fonction de l'âge : pour aucune région, la diminution n'excède 50 %, tandis que pour l'histamine à quatre semaines les concentrations observées sont 4 à 5 fois plus faibles que celles observées à une semaine.

L'observation de la figure II permet de constater que :

- les variations pour le cerveau entier sont le reflet des variations du cortex : ce fait peut être expliqué par la grande masse que représente le cortex par rapport au cerveau entier (50 %).

- à l'âge de deux semaines, les quantités totales d'histidine sont maximales dans toutes les régions (à l'exception des corps striés) : ceci est en accord avec les résultats trouvés pour le cerveau entier (figure I).

- d'une manière générale, les variations en histidine sont parallèles aux variations de poids de la région considérée. Néanmoins le bulbe et le cervelet présentent encore à la quatrième semaine une augmentation de poids, sans variation de l'histidine ; en revanche, à cet âge, pour le thalamus, le poids reste stable lorsque la quantité d'histidine diminue.

Cette distribution régionale de l'histidine chez le rat est comparable à celle retrouvée chez le chat (6). En général, la distribution des acides aminés libres chez les différentes espèces de mammifères est assez comparable (58) . L'histidine serait un des acides aminés qui se trouve à faible concentration, par rapport à d'autres tels que le GABA, l'acide glutaminique, l'acide aspartique (58).

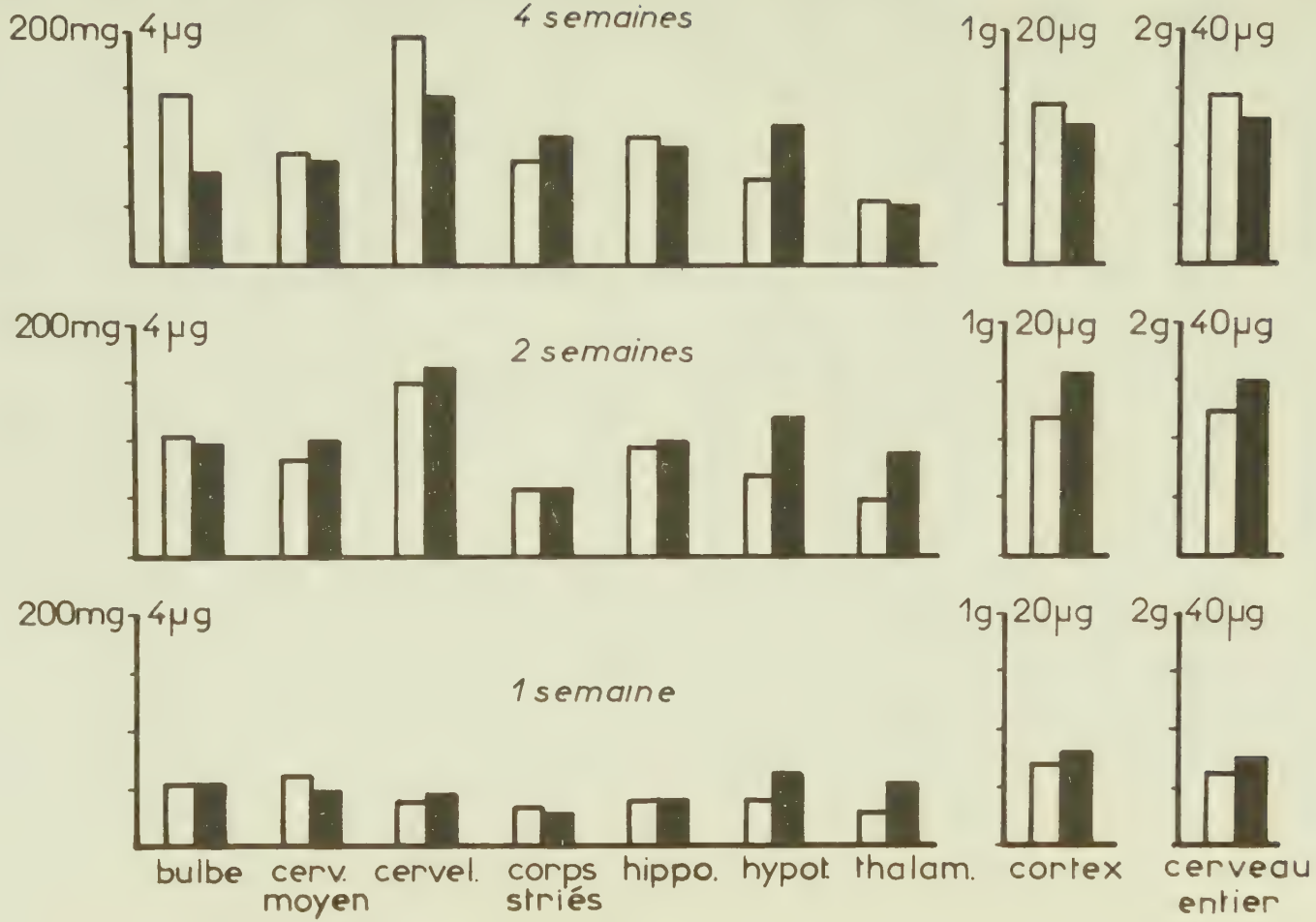
TABLEAU N° 6.

Distribution régionale de l'Histidine en fonction de l'âge.

Région cérébrale	HISTIDINE en µg/g de tissu frais ± Sm (24 animaux par lot)		
	1 semaine	2 semaines	4 semaines
Bulbe	18,9 ± 0,2[a]	19,1 ± 1,0[a]	11,0 ± 0,3
Cerveau moyen	16,5 ± 0,6	23,7 ± 1,1[d]	18,9 ± 1,6
Cervelet	21,1 ± 0,6[a]	21,5 ± 0,7[a]	14,5 ± 0,5
Corps striés	18,1 ± 0,1[c]	21,3 ± 0,2[d]	24,3 ± 1,0
Cortex	22,3 ± 0,6[a]	25,6 ± 0,6[a]	16,6 ± 0,3
Hippocampe	20,0 ± 0,1[d]	21,0 ± 0,4[c]	17,6 ± 0,8
Hypothalamus	29,8 ± 1,6	34,2 ± 1,3	31,6 ± 2,0
Thalamus	35,6 ± 2,0[a]	35,7 ± 3,8[a]	18,1 ± 1,8
	Variations significatives par rapport à 4 semaines : a ($p < 0,001$), b($p < 0,01$), c($p < 0,02$) et d ($p < 0,05$)		

Répartition régionale de l'histidine cérébrale
en fonction de l'âge.

Colonnes noires : histidine en microgrammes.



Des considérations similaires à celles effectuées pour le cerveau entier peuvent être faites au niveau régional. Les taux d'histidine seraient conditionnés par les modifications particulières à chaque région :

- variations de l'intensité de synthèse protéique et du degré de participation de l'histidine dans la constitution des protéines cérébrales (76) (79).

- développement de la vascularisation (22) (23).

- diminution de la perméabilité vasculaire et cellulaire avec l'âge (110).

Les variations régionales de l'activité de l'histidine-décarboxylase, mais aussi des différentes concentrations en histidine influenceraient les taux régionaux d'histamine.

D'une manière générale, les régions les plus riches en histamine (hypothalamus et structures mésencéphaliques) le sont aussi en histidine.

CHAPITRE II

VARIATIONS DES TAUX CEREBRAUX D'HISTAMINE ET D'HISTIDINE APRES ADMINISTRATION DE L-HISTIDINE.

INTRODUCTION

Il est généralement admis que le tissu nerveux de rat et d'autres mammifères est capable de synthétiser de l'histamine à partir d'histidine (94) . Des études sur le métabolisme de l'histamine radioactive montrent la présence de ^{14}C histamine et de ses métabolites après administration de ^{14}C-histidine, soit par voie intra-ventriculaire (61), soit par voie parentérale (89) (90).

D'autre part il est admis que la barrière hémato-méningée est perméable à l'histidine (65) et que mesuré "in vitro", la captation de l'histidine par le tissu nerveux varie en fonction de la région et de l'âge de l'animal (6) (84).

Ces faits nous ont amenés à étudier les modifications provoquées par l'administration de L-histidine sur les taux cérébraux de l'amine et de l'acide aminé :

- soit en fonction de l'âge,
- soit en fonction de la région.

Au préalable, nous avons étudié les variations des taux de ces deux substances, en fonction du temps de sacrifice après l'administration de L-histidine.

A. VARIATIONS EN FONCTION DU TEMPS DE SACRIFICE

Protocole

Les taux cérébraux d'histamine et d'histidine ont été déterminés selon la méthode décrite, après administration de L-histidine (100 mg/kilo i.p.) chez des rats Wistar (Charles River) de poids corporel compris entre 80-100 g âgés de quatre semaines.

Les animaux ont été sacrifiés 30, 60, 90, 120 et 180 minutes après l'administration de L-histidine.

Résultats

Les résultats sont résumés dans le tableau n° 7. Les taux d'histamine et d'histidine sont exprimés respectivement en ng/g et µg/g de tissu frais.

TABLEAU N° 7

Variations en fonction du temps de l'histamine et de l'histidine, après administration de L-histidine.

Temps minutes	Histamine ng/g ± Sm de tissu frais	Histidine µg/g ± Sm de tissu frais	Nombre d'animaux
0	58,6 ± 3,4	14,5 ± 0,3	10
30	55,4 ± 1,9	22,0 ± 2,5[a]	8
60	69,4 ± 2,4[c]	24,7 ± 1,3[a]	8
90	59,5 ± 2,2	17,0 ± 0,9[b]	8
120	57,9 ± 3,0	18,9 ± 0,4[a]	8
180	57,6 ± 2,6	20,0 ± 0,7[a]	8

Variations significatives par rapport aux témoins (temps 0) :

a : $p < 0,001$; b : $p < 0,01$; c : $p < 0,02$

Discussion

L'observation des résultats permet de constater :

Histamine : La L-histidine provoque une augmentation des taux d'histamine une heure après l'administration du précurseur (significative à $p < 0,02$).

Histidine : Les taux de cet acide aminé se trouvent augmentés significativement dans tous les cas : après une heure, cette augmentation est maximale.

Ces résultats nous ont amené à utiliser le temps d'une heure dans toutes les expériences ultérieures.

Cette étude permet d'expliquer les résultats négatifs obtenus par WHITE (121) qui mesure l'histamine 2 h., 25 h. et 52 h. après l'administration de L-histidine. CAMPOS et coll. (15) trouvent une augmentation du même ordre une heure après l'administration d'une dose plus forte de l'acide aminé.

B. VARIATIONS EN FONCTION DE L'AGE

Protocole

Le dosage simultané de l'histidine et de l'histamine a été appliqué aux cerveaux entiers de rats d'âges différents avant et après administration de L-histidine (100 mg/kg i.p.). Les âges étudiés s'échelonnent de la naissance à 12 semaines ; le sacrifice des animaux a été effectué une heure après l'administration de l'acide aminé.

Résultats

Les résultats sont résumés dans les tableaux n° 8 et 9. Les taux d'histidine et d'histamine sont exprimés respectivement en g/g et ng/g de tissu frais. Les variations significatives par rapport aux témoins sont mentionnées en bas des tableaux.

L'administration de L-histidine provoque :

- une augmentation significative des taux d'histamine à l'âge d'un jour, une semaine et quatre semaines.
- une augmentation significative des taux d'histidine à tous les âges étudiés.

Sur la figure III, nous avons représenté graphiquement l'augmentation des taux des deux substances en fonction de l'âge.

TABLEAU N° 8

Variations en fonction de l'âge des taux cérébraux d'histidine après administration de L-histidine

Age	HISTIDINE µg/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Naissance	45,3 ± 5,0	110,7 ± 4,5^{d}
1 jour	24,0 ± 0,8	77,8 ± 2,1^{d}
1 semaine	20,1 ± 0,8	62,8 ± 2,9^{d}
2 semaines	18,9 ± 0,6	52,4 ± 1,1^{d}
3 semaines	16,0 ± 0,9	37,6 ± 0,9^{d}
4 semaines	14,4 ± 4,0	29,3 ± 1,4^{c}
6 semaines	8,3 ± 0,4	16,0 ± 0,8^{d}
8 semaines	8,8 ± 0,7	18,7 ± 1,1^{d}
12 semaines	7,6 ± 0,8	16,2 ± 0,9^{d}

Variations significatives par rapport aux témoins.

c : $p < 0,01$ d : $p < 0,001$ (12 animaux par âge).

TABLEAU N° 9

Variations en fonction de l'âge des taux cérébraux d'Histamine après administration de L-histidine.

AGE	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	TEMOINS	TRAITES
Naissance	239,9 ± 4,9	280,8 ± 15,9 [a]
1 jour	284,4 ± 15,1	446,8 ± 34,3 [d]
1 semaine	301,2 ± 26,6	311,9 ± 19,9
2 semaines	119,4 ± 10,8	128,1 ± 8,4
3 semaines	77,6 ± 2,3	88,0 ± 9,4
4 semaines	58,3 ± 2,0	68,9 ± 2,6 [c]
6 semaines	49,3 ± 2,0	54,6 ± 1,7
8 semaines	40,9 ± 3,1	42,1 ± 1,5
12 semaines	37,7 ± 3,6	40,5 ± 1,9

Variations significatives par rapport aux témoins

a : $p \leq 0,05$; b : $p < 0,02$; c : $p < 0,01$; d : $p < 0,001$
(12 animaux par âge).

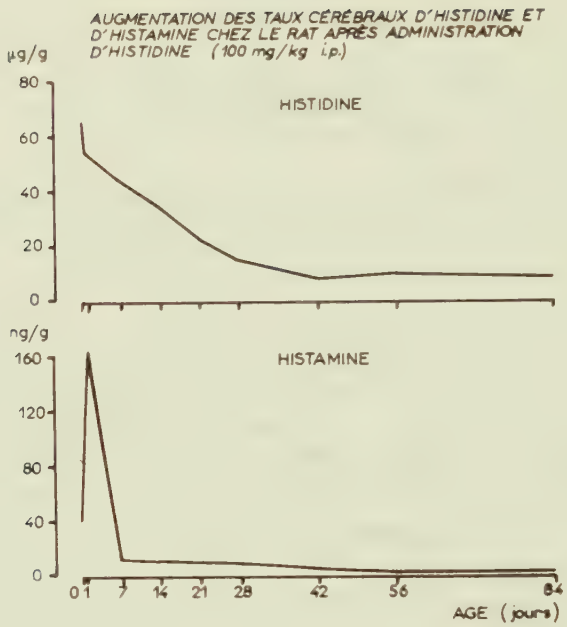


Figure III : Augmentation des taux d'histamine et d'histidine en fonction de l'âge, après administration de L —histidine.

Accessoirement, il nous a semblé utile de mesurer les taux sanguins d'histamine avant et après l'administration de L-histidine chez des animaux d'un jour et d'une semaine. Les résultats résumés dans le tableau n° 10 sont exprimés en ng/ml de sang total (moyenne de 5 expériences).

TABLEAU N° 10

Taux sanguins d'HISTAMINE

Age	HISTAMINE ng/ml ± Sm	
	Témoins	Traités
1 jour	128,4 ± 1,7	142,5 ± 35,4
1 semaine	176,5 ± 3,0	175,0 ± 12,4

Discussion

Histidine

L'augmentation des taux d'histidine après administration de cet acide aminé est d'autant plus grande que les animaux sont plus jeunes. A partir de six semaines, cette augmentation se stabilise. Il existe une perméabilité de la barrière hématoencéphalique à l'histidine.

Les différentes augmentations au cours du développement peuvent être en rapport avec les modifications observées au niveau du tissu nerveux.

- le degré d'hydratation du tissu et la présence d'autres métabolites exerceraient une inhibition compétitive de la captation de l'histidine par le tissu nerveux (16) (69).

- la captation est plus grande dans les régions les plus riches en corps cellulaires (6). Il en résulterait une augmentation plus importante chez l'animal jeune : les axones et dendrites se développent après la naissance.

A partir de l'âge de six semaines, l'augmentation reste constante. Cet âge correspond à la période de stabilité biochimique du cerveau, son développement étant achevé (57) (72).

Histamine

L'administration de L-histidine provoque une élévation importante des taux d'histamine à la naissance et à l'âge d'un jour. Cette période correspond à la phase pendant laquelle les taux normaux de l'amine augmentent.

Ensuite, pendant la période durant laquelle l'histamine diminue, l'histidine administrée, dans tous les cas, provoque lors de nos expériences, des faibles augmentations qui ne sont pourtant révélées significatives qu'à l'âge de quatre semaines.

La figure III permet de constater qu'il n'existe pas de corrélation entre les augmentations en histidine et en histamine.

Pour quelques auteurs (90) (110), il existerait une légère perméabilité à l'histamine de la barrière hémato-méningée chez le rat. HALPERN et coll. (52) pensent que l'histamine ne peut pas franchir cette barrière.

Le fait que les taux sanguins de l'amine ne se trouvent pas augmentés après administration de L-histidine (tableau 10) serait en faveur de l'hypothèse de la synthèse "in situ" de l'histamine.

Le tissu cérébral possède une activité histidine décarboxylase. Très récemment, SCHWARTZ et coll. (104) ont montré que l'activité de l'histidinedécarboxylase cérébrale chez le rat varie en fonction de l'âge. Cette activité due à l'histidinedécarboxylase spécifique, se trouverait diminuée lorsque les taux normaux d'histamine passent par un maximum. Nous trouvons après administration de L-histidine les plus fortes augmentations d'histidine et d'histamine, à la naissance et à un jour. Pendant cette période, l'activité histidinedécarboxylase commence à diminuer, mais elle est importante. A une semaine, malgré l'augmentation encore très importante de l'histidine, la faible activité de l'histidinedécarboxylase n'entraîne pas de modification des taux de l'amine. A partir de cet âge, l'activité histidinedécarboxylase augmente et se stabilise ; après administration de L-histidine, l'augmen-

tation en histidine diminue progressivement. Ces phénomènes peuvent expliquer la stabilisation de l'augmentation des taux d'histamine.

C. VARIATIONS REGIONALES

Protocole

Nous avons étudié les variations régionales provoquées par l'administration de L-histidine à l'âge de 4 semaines. A cet âge, les taux d'histamine (8) et d'histidine sont pratiquement ceux de l'adulte et la perméabilité à l'histidine de la barrière hématoméningée est encore importante (Figure III).

Nous avons suivi le même protocole expérimental que dans les expériences précédentes (sacrifice des animaux 1 heure après l'administration i.p. de 100 mg/kg d'histidine).

Résultats

Les tableaux n° 11 et 12 résument les résultats pour chacune des deux substances, histidine et histamine. Sur la figure IV sont représentées les variations procentuelles. Ce mode d'expression permet de comparer entre elles les différentes régions.

(Voir tableaux ci-après)

TABLEAU N° 11

Variations des taux d'histidine,
après administration de L-histidine.

Région cérébrale	HISTIDINE µg/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Bulbe	19,1 ± 0,6	31,5 ± 1,1 [a]
Cerveau moyen	18,6 ± 0,2	34,2 ± 0,4 [a]
Cervelet	27,1 ± 1,1	49,9 ± 1,6 [a]
Corps striés	23,9 ± 1,1	39,7 ± 1,2 [a]
Cortex	15,2 ± 1,1	34,2 ± 0,9 [a]
Hippocampe	27,8 ± 0,7	43,3 ± 0,8 [a]
Hypothalamus	32,2 ± 0,8	61,1 ± 2,0 [a]
Thalamus	22,4 ± 1,1	37,2 ± 2,3 [a]

Variations significatives : a : $p < 0,01$

(24 animaux par lot).

TABLEAU N° 12

Variations des taux d'histamine,
après administration de L-histidine

Régions cérébrales	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Bulbe	29,1 ± 1,4	33,7 ± 4,0
Cerveau moyen	55,7 ± 7,7	51,6 ± 4,3
Cervelet	19,8 ± 1,1	23,7 ± 2,1
Corps striés	59,8 ± 9,8	82,8 ± 14,4
Cortex	48,4 ± 1,7	67,1 ± 1,3 [a]
Hippocampe	40,7 ± 11,1	51,6 ± 12,9
Hypothalamus	242,4 ± 14,7	285,4 ± 13,8 [b]
Thalamus	199,6 ± 23,6	226,9 ± 25,1

Variations significatives a : $p < 0,001$

b : $p < 0,05$ (24 animaux par lot).

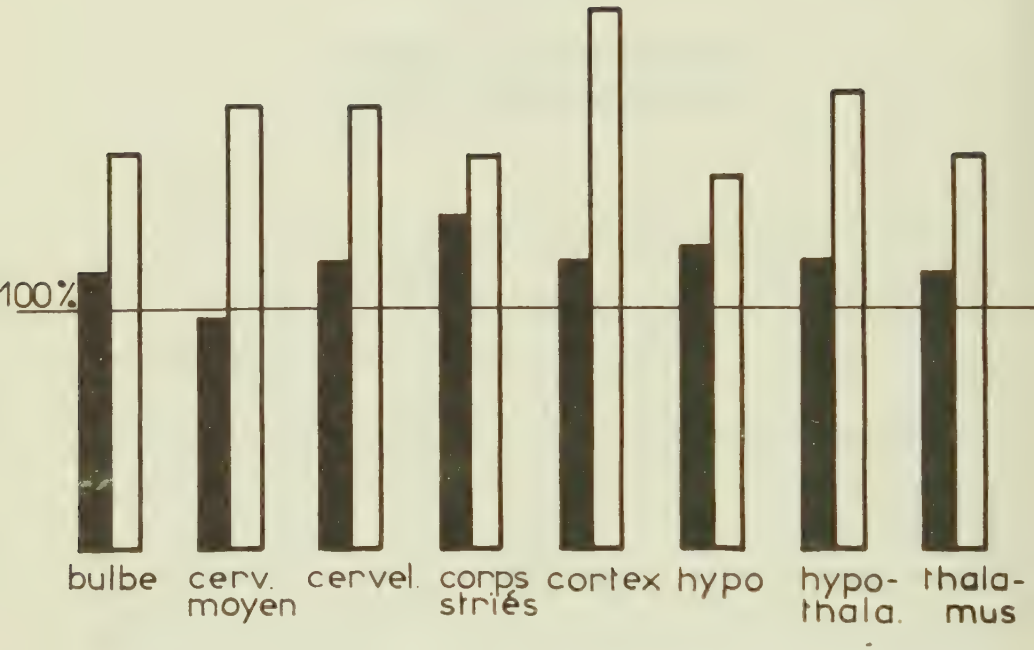


Figure IV : Variations procentuelles des taux d'histamine et d'histidine, après administration de L-histidine.

Discussion

L'administration de L-histidine provoque l'augmentation des taux de cet acide aminé dans toutes les régions étudiées. Cette augmentation n'est pas homogène d'une région à l'autre.

Chez le rat (92) (104), et chez d'autres mammifères (59) (77) (120), l'hypothalamus est la région qui possède la plus forte activité histidinedécarboxylase ; dans cette structure, les plus fortes augmentations en histidine sont observées. Ces deux faits expliquent l'augmentation significative des taux d'histamine que nous avons constatée. Dans le thalamus, l'activité de l'histidinedécarboxylase est moins grande mais relativement proche de celle de l'hypothalamus. (92) (104) . L'augmentation en histidine y est moins importante. Il en résulte une augmentation des taux d'histamine relativement élevée. Cette augmentation ne s'est pas cependant révélée significative dans nos expériences.

Dans les autres structures, soit l'activité de l'histidinedécarboxylase, soit la captation de l'histidine sont faibles. Les augmentations en histamine sont faibles.

D'une manière générale, la différence entre les concentrations en histamine chez les animaux traités et chez les témoins, est en relation très étroite avec l'activité histidine décarboxylase de la région considérée (92).

Au niveau régional, les augmentations provoquées par l'administration de L-histidine, semblent dépendre de l'activité de l'enzyme mais aussi des taux de l'acide aminé dans la région considérée.

Les augmentations en histidine, plus fortes et plus homogènes que celles observées pour l'histamine, pourraient dépendre du degré de vascularisation et du pouvoir de captation de l'acide aminé par la région.

3e PARTIE

Chapitre I : Etude de l'action de quelques substances à action centrale sur les taux d'histamine cérébrale.

Chapitre II : Etude la action d'un antihistaminique (diphenhydramine) sur les taux d'histamine cérébrale.

oooOooo

CHAPITRE I

ETUDE DE L'ACTION DE QUELQUES SUBSTANCES A ACTION CENTRALE SUR LES TAUX D'HISTAMINE CEREBRALE.

INTRODUCTION.

Nous avons étudié les variations des taux d'histamine cérébrale après administration de trois substances à action centrale :

A - La β -phenylisopropylhydrazine : inhibiteur de la MAO.

B - L'imipramine : antidépresseur tricyclique qui possède des actions antihistaminiques.

C - La morphine : analgésique central histamino-libérateur périphérique.

A. β -PHENYLISOPROPYLHYDRAZINE.

Protocole.

Les animaux utilisés sont des rats mâles (Charles River) de poids corporel de 200 ± 10 grammes. Ils ont été sacrifiés 4 heures après l'administration intrapéritonéale de β -phénylisopropyl-hydrazine (β PIH), à la dose de 5 mg/kg.

Résultats.

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins. Chaque lot est constitué de 24 animaux. Les résultats en ng/g sont résumés dans le tableau n° 13.

Les taux pour le cerveau entier sont calculés d'après les taux et les poids de chacune des régions.

TABLEAU N° 13

Variations des taux régionaux d'histamine
après administration de β-phénylisopropylhydrazine.

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Cervelet	33,5 ± 6,2	21,6 ± 4,9
Corps striés	62,1 ± 5,6	55,2 ± 6,2
Cortex	35,5 ± 2,1	34,6 ± 1,6
Hippocampe	43,0 ± 2,1	38,3 ± 4,2
Hypothalamus	217,4 ± 13,1	251,9 ± 15,8
Thalamus	141,0 ± 4,8	181,7 ± 10,8 [a]
Tronc cérébral	33,5 ± 2,2	36,7 ± 3,8
Cerveau entier	47,1 ± 3,4	47,9 ± 3,7

Variations significatives par rapport aux témoins : a : $p < 0,01$
24 animaux par lot.

Discussion

Nous avons essayé d'étudier l'action de la β -PIH sur l'histamine présente dans le tissu nerveux. Les taux régionaux de cette amine ont été mesurés après l'administration de la β -PIH a la même dose que SNYDER et coll. (111). Ces auteurs ont étudié l'action de cet IMAO sur le métabolisme de la ^{3}H -histamine exogène administrée par voie intraventriculaire. Ils retrouvent une diminution de la vitesse de disparition de la ^{3}H-histamine, ainsi qu'une diminution de l'acide ^{3}H imidazolacétique dans le tissu nerveux.

Nos résultats sur l'histamine endogène montrent cette inhibition du catabolisme de l'amine au niveau du thalamus, où les taux de cette amine se trouvent augmentés.

Cette inhibition du catabolisme de l'histamine est donc moins importante au niveau de l'histamine endogène. Ainsi WHITE (123), après administration d'iproniazide chez le chat, ne trouve pas d'augmentation du taux d'histamine, mais une augmentation du taux de méthylhistamine ; ADAM et coll. (2) trouvent une augmentation dans l'hypothalamus et le thalamus, de la concentration en méthylhistamine.

Il faut noter que SHORE et COHN (108) trouvent que tous les IMAO hydraziniques possèdent "in vitro" une activité inhibitrice de la diamine oxidase.

B. IMIPRAMINE

Protocole :

Les animaux utilisés sont des rats mâles (Charles River) de poids corporel compris entre 90 et 95 g. Ils ont été sacrifiés une heure après administration intra-péritonéale d'imipramine à la dose de 50 mg/kg.

Résultats :

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins. Les résultats en ng/g sont résumés dans le tableau n° 14.

Les taux pour le cerveau entier sont calculés d'après les taux et les poids pour chacune des régions.

TABLEAU N° 14

Variations des taux régionaux d'histamine
après administration d'Imipramine.

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Cervelet	19,6 ± 2,8	18,7 ± 2,2
Corps striés	105,3 ± 18,6	98,4 ± 12,8
Cortex	38,6 ± 2,1	46,0 ± 1,4
Hippocampe	52,6 ± 9,8	34,3 ± 5,5
Hypothalamus	267,4 ± 22,0	347,8 ± 35,1
Thalamus	258,3 ± 30,1	176,1 ± 33,0
Tronc cérébral	67,6 ± 3,8	60,6 ± 2,9
Cerveau entier	61,2 ± 5,4	61,3 ± 4,8

24 animaux par lot.

Discussion

L'imipramine, mises à part ses autres propriétés pharmacologiques (45), possède une action antihistaminique (26) (113). Il nous a semblé intéressant d'étudier l'action de l'imipramine sur l'histamine cérébrale. Cette substance a des actions antiréserpine : la réserpine diminue fortement les concentrations d'histamine dans l'hypothalamus et le thalamus chez le chat (0,5 à 10 mg/kg i.p.) (1) (2) (121). GREEN et ERICKSON (39) n'ont pas trouvé de modification du taux global d'histamine dans le cerveau de rat après traitement par l'imipramine (100 mg/kg p.o. 2 h.).

La mesure de la concentration dans le cerveau entier peut ne pas mettre en évidence des modifications au niveau de différentes structures.

Nous avons donc mesuré les taux régionaux de l'amine 1 heure après administration d'imipramine (50 mg/kg i.p.) Nos résultats montrent que dans nos conditions, l'imipramine ne modifie pas la concentration en histamine des régions cérébrales étudiées.

Ces résultats négatifs concordent avec les résultats de GARATTINI sur les propriétés antihistaminiques de l'imipramine (33) : l'activité antiréserpine de cette substance s'expliquerait par une interaction avec les catécholamines.

C. MORPHINE

Protocole :

Les animaux utilisés sont des rats mâles (Charles River) âgés de quatre semaines et de poids corporel compris entre 90 et 95 g. Ils ont été sacrifiés une heure après l'administration intrapéritonéale de morphine à la dose de 5 mg/kg.

Résultats :

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins. Chaque lot est constitué de 24 animaux. Les résultats en ng/g sont résumés dans le tableau n° 15.

Les taux pour le cerveau entier sont calculés d'après les taux et les poids pour chacune des régions.

TABLEAU N° 15

Variations des taux régionaux d'histamine
après administration de Morphine.

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Cervelet	19,6 ± 2,8	14,8 ± 2,1
Corps striés	105,3 ± 18,6	78,8 ± 5,1
Cortex	38,6 ± 2,1	36,0 ± 1,8
Hippocampe	52,6 ± 9,8	49,8 ± 7,6
Hypothalamus	267,4 ± 22,0	301,5 ± 18,6
Thalamus	258,3 ± 30,1	251,1 ± 29,7
Tronc cérébral	67,6 ± 3,8	58,2 ± 3,6
Cerveau entier	61,2 ± 5,4	57,8 ± 4,5

24 animaux par lot.

Discussion

La morphine est un histamino-libérateur à la périphérie (114) dont le mécanisme d'action centrale n'est pas bien établi.

ADAM et coll. (2) n'ont pas trouvé de modifications de la concentration en histamine dans l'hypothalamus et le thalamus chez le chat. Dans le cerveau entier chez le rat, GREEN et ERICKSON (39) ne trouvent pas non plus de modification (5 mg/k s.c. 1 h.).

Nous avons déterminé les concentrations régionales chez le rat : les résultats ne montrent pas de variation significative au niveau des régions étudiées, après traitement par la morphine.

CONCLUSIONS

Les déterminations de la répartition de l'histamine cérébrale après traitement par la β-phenylisopropylhydrazine , l'imipramine, ou la morphine ne peuvent étayer aucune des hypothèses formulées pour expliquer le mécanisme d'action de ces substances. Elles ne permettent du point de vue pharmacologique ni d'impliquer ni d'exclure une relation entre l'histamine et ces substances.

CHAPITRE II.

ETUDE
DE L'ACTION D'UN ANTIHISTAMINIQUE (DIPHENHYDRAMINE)
SUR LES TAUX D'HISTAMINE CEREBRALE.

INTRODUCTION

Le mécanisme d'action biochimique des antihistaminiques n'est pas bien connu. Si ce mécanisme d'action a été étudié par de nombreux auteurs à la périphérie, un intérêt bien moindre a été porté aux effets de ces substances au niveau du cerveau.

La diphenhydramine (DPH) est un antihistaminique qui possède une action au niveau du système nerveux central. (17) (18) (38) (43) (86) (112) (118) (53) (88).

Nous avons pensé qu'il serait peut-être possible d'établir un rapport entre les actions centrales de la DPH et le métabolisme cérébral de l'histamine.

Dans ce chapitre, nous avons étudié les modifications des taux d'histamine provoquées par l'administration de DPH.

Dans la première série d'expériences, le DPH est administrée seule chez différentes espèces animales.

Dans une deuxième série d'expériences, l'action de la DPH associée à l'histidine est étudiée chez le rat : deux types de protocoles ont été utilisés.

. La L-histidine est administrée après la DPH,

. La DPH est administrée après la L-histidine.

A. VARIATIONS DES TAUX D'HISTAMINE APRES ADMINISTRATION DE DIPHENHYDRAMINE SEULE.

Les effets de l'administration de DPH sur les taux d'histamine cérébrale sont étudiés chez trois espèces : rat, lapin et cobaye.

1 - Chez le rat

a - Administration unique (50 mg/kg).

Protocole

Des rats mâles (Charles River) de poids corporel de 200 ± 10 g ont reçu 50 mg/kg de DPH par voie intrapéritonéale. Les animaux ont été sacrifiés 30 et 60 minutes après l'administration de DPH (24 animaux par lot).

Résultats

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins. Les résultats en ng/g sont résumés dans le tableau n° 16.

Après administration de DPH, les taux d'histamine des cerveaux entiers ne varient pas de façon significative quel que soit le temps de sacrifice des animaux ; par contre, au niveau des régions cérébrales, la DPH provoque une augmentation des taux d'histamine dans les corps striés et une diminution au niveau de l'hypothalamus. Ces effets sont observés 30 minutes après l'injection. Aucune variation significative n'est observée 60 minutes après l'administration de DPH.

b - Administration chronique (25 mg/kg)

Protocole

Des rats mâles (Charles River) de poids corporel de 80 ± 10 g ont reçu 25 mg/kg de DPH par voie intrapéritonéale pendant 7 jours consécutifs. Le 7e jour, les animaux ont été sacrifiés 30 minutes après l'administration de la DPH.

Résultats

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins (24 animaux par lot). Les résultats exprimés en ng/g sont résumés dans le tableau n° 17.

TABLEAU N° 16

Variations des taux d'histamine, chez le rat, après administration de diphenhydramine (50 mg/kg i.p.)

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm		
	Témoins	30 minutes	60 minutes
Cervelet	34,2 ± 2,9	32,0 ± 5,0	27,9 ± 1,6
Corps striés	52,7 ± 4,5	110,9 ± 16,3 [b]	72,5 ± 12,4
Cortex	41,2 ± 1,6	39,0 ± 2,7	37,9 ± 3,2
Hippocampe	46,3 ± 5,2	37,7 ± 5,3	45,4 ± 9,4
Hypothalamus	227,6 ± 8,2	157,0 ± 14,0 [a]	238,8 ± 34,2
Thalamus	189,4 ± 10,7	162,6 ± 13,7	172,3 ± 11,4
Tronc cérébral	28,2 ± 1,5	32,5 ± 2,1	33,1 ± 2,1
Cerveau entier	53,6 ± 2,8	50,4 ± 4,6	53,9 ± 5,2

Variations significatives par rapport aux témoins :

a : $p < 0,001$ b : $p < 0,01$ (24 animaux par lot).

TABLEAU N° 17.

Variations des taux d'histamine chez le rat
après administration de diphenhydramine (25 mg/kg i. p. 7 jours)

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Bulbe	28,6 ± 7,9	22,7 ± 1,5
Cerveau Moyen	45,7 ± 6,8	31,5 ± 2,7
Cervelet	22,6 ± 4,5	19,4 ± 3,4
Corps striés	41,4 ± 6,1	36,9 ± 4,6
Cortex	39,2 ± 2,8	37,9 ± 2,5
Hippocampe	45,7 ± 3,1	39,4 ± 2,8
Hypothalamus	264,9 ± 13,1	277,9 ± 10,1
Thalamus	231,5 ± 20,0	217,4 ± 26,8
Cerveau entier	54,8 ± 5,1	51,8 ± 3,9

24 animaux par lot.

L'administration de DPH pendant 7 jours consécutifs ne modifie pas d'une façon significative les taux d'histamine du cerveau entier ou des différentes régions cérébrales.

2 - Chez le lapin

Protocole :

Des lapins mâles (Fauve de Bourgogne) de poids corporel 2,5 ± 0,1 kg ont reçu 5 mg/kg de DPH par voie intraveineuse (veine marginale de l'oreille). Les animaux ont été sacrifiés 10 minutes après l'administration de la DPH.

Résultats :

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins (6 animaux par lot). Les résultats exprimés en ng/g sont résumés dans le tableau 18.

Dans nos conditions expérimentales, la DPH ne modifie pas les taux d'histamine du cerveau entier. Au niveau régional, seul le tronc cérébral montre une légère diminution ($p < 0,02$).

3 - Chez le Cobaye

Protocole :

Des cobayes tricolores mâles de poids corporel de 190 ± 10 g ont reçu 50 mg/kg de DPH par voie intra-péritonéale. Les animaux ont été sacrifiés 30 mn après l'injection.

Résultats :

Les taux régionaux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux des témoins (12 animaux par lot). Les résultats en ng/g sont résumés dans le tableau 19.

L'observation des résultats permet de constater que la DPH ne modifie pas les taux d'histamine au niveau du cerveau entier ; au niveau régional, une augmentation significative à $p < 0,02$ est observée dans l'hypothalamus.

TABLEAU N° 18.

Variations des taux d'histamine chez le lapin

après administration de diphenhydramine (5 mg/kg i.v.).

Régions cérébrales	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Cervelet	72,3 ± 5,8	79,9 ± 6,5
Corps striés	134,7 ± 12,7	152,1 ± 8,8
Cortex	91,6 ± 4,9	85,0 ± 6,8
Hippocampe	123,1 ± 5,5	134,2 ± 10,7
Hypothalamus	405,3 ± 40,7	327,2 ± 26,4
Thalamus	190,0 ± 31,5	200,1 ± 1,7
Tronc cérébral	137,4 ± 4,2	111,6 ± 7,8 [a]
Cerveau entier	120,0 ± 4,2	105,4 ± 7,6

Variations significatives par rapport aux témoins :

a : $p < 0,02$ (24 animaux par lot).

TABLEAU N° 19.

Variations des taux d'histamine,
chez le cobaye après administration de diphenhydramine
(50 mg/kg i.p.)

Région cérébrale	HISTAMINE ng/g de tissu frais ± Sm	
	Témoins	Traités
Cervelet	31,4 ± 2,7	24,5 ± 1,9
Corps striés	58,7 ± 1,9	56,1 ± 4,6
Cortex	58,2 ± 3,7	55,1 ± 4,1
Hippocampe	59,6 ± 10,4	54,2 ± 2,5
Hypothalamus	191,6 ± 11,3	260,7 ± 14,5 [a]
Thalamus	94,3 ± 17,5	80,9 ± 6,5
Tronc cérébral	47,2 ± 3,9	47,7 ± 4,9
Cerveau entier	59,8 ± 2,1	58,5 ± 2,4

Variations significatives par rapport aux témoins :

a : $p < 0,02$ (24 animaux par lot).

Discussion

La DPH ne modifie pas les taux d'histamine dans le cerveau entier, chez les espèces étudiées. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de GREEN et ERICKSON qui observent chez le rat une diminution (39) et chez le cobaye une augmentation des taux de l'amine (40).

Les modifications observées dans l'hypothalamus et les corps striés chez le rat, 30 minutes après l'administration de la DPH ne sont pas retrouvées 60 mn après. Ces modifications sont donc transitoires ; leur cinétique semble parallèle à celle des effets pharmacologiques observés chez le rat (55) (56) (124).

L'administration de DPH pendant 7 jours consécutifs ne provoque pas de modification soit au niveau du cerveau entier, soit au niveau régional. Ce fait pourrait être expliqué par la capacité de la DPH, lorsqu'elle est administrée à doses répétées, stimuler les enzymes qui métabolisent cet antihistaminique (23).

Les taux d'histamine significativement augmentés sont retrouvés dans le thalamus chez le rat et dans l'hypothalamus chez le cobaye. Par contre, ils se trouvent significativement diminués dans l'hypothalamus chez le rat et dans le tronc cérébral chez le lapin.

Ces résultats sont difficiles à interpréter sans information complémentaire : connaissance des modifications que la DPH est susceptible de provoquer sur les activités des enzymes du métabolisme de l'histamine, dans les différentes régions cérébrales de chacune des espèces étudiées.

B. VARIATIONS DES TAUX D'HISTAMINE APRES ADMINISTRATION DE DIPHENHYDRAMINE ET L-HISTIDINE ASSOCIEES.

L'étude de l'action de la DPH associée à la L-histidine a été effectuée chez des rats mâles (Charles River) de poids corporel de 200 ± 10 g. Les doses utilisées sont de 100 mg/kg pour la L-histidine et de 50 mg/kg pour la DPH, administrées toujours par voie intrapéritonéale.

Deux groupes d'expériences ont été réalisées :

1 - Administrations successives de DPH et de L-histidine.

2 - Administrations successives de L-histidine et de DPH.

1 - Administrations successives de diphenhydramine et de L-histidine.

Protocole

Les rats ont reçu d'abord la DPH puis 30 mn après, la L-histidine. Après 30 autres mn (60 mn après DPH), ils ont été sacrifiés. Parallèlement, des rats ayant reçu soit de la L-histidine seule, soit de la DPH seule, sont sacrifiés respectivement à 30 et à 60 mn après l'injection.

Les taux d'histamine des cerveaux entiers sont mesurés et comparés à ceux des témoins.

Résultats

Les résultats exprimés en pourcentage par rapport aux témoins sont résumés dans le tableau n° 20.

Après administrations successives de DPH et de L-histidine, les taux cérébraux d'histamine ne sont pas modifiés de façon significative.

TABLEAU N° 20.

Variations procentuelles de l'histamine cérébrale après administration de DPH suivie de L-histidine

Témoins	100,0 ± 6,3
L-histidine	116,2 ± 8,6
DPH	104,8 ± 7,4
DPH + L-histidine	109,3 ± 5,1

2 - Administrations successives de L-histidine et de DPH

a - Cerveau entier

Protocole

Les rats ont reçu successivement la L-histidine puis, une heure après, la DPH. Les animaux ont été ensuite répartis en cinq lots différents pour lesquels le sacrifice a eu lieu respectivement 15, 30, 60, 120 et 180 mn après la dernière injection. Les taux d'histamine ont été mesurés et comparés à ceux observés après administration de L-histidine seule dans les mêmes conditions.

Résultats

Les résultats exprimés en pourcentage par rapport aux témoins (temps 0) sont résumés dans le tableau n° 21. Les variations significatives sont mentionnées en bas du tableau.

L'administration successive de L-histidine et de DPH provoque une augmentation des taux d'histamine plus importante que celle obtenue après L-histidine seule.

b - Régions cérébrales

Protocole

Le même protocole que pour l'expérience sur cerveau entier avec sacrifice 30 mn après administration de DPH a été suivi pour étudier les variations régionales (ce temps produit les augmentations maximales au niveau du cerveau entier : tableau 21).

Résultats

Les taux d'histamine obtenus pour chacune des régions cérébrales sont consignés dans le tableau n° 22. Les résultats sont exprimés en ng/g et les variations significatives par rapport aux témoins sont mentionnées en bas du tableau.

Dans toutes les régions étudiées, l'administration de L-histidine ne provoque pas d'augmentation significative des taux d'histamine. En revanche, l'administration successive de L-histidine et de DPH provoque une augmentation des concentrations d'histamine dans l'hypothalamus, les corps striés et le tronc cérébral.

TABLEAU N° 21.

Variations procentuelles en fonction du temps des taux cérébraux d'histamine après administration intra-péritonéales soit de L-histidine seule, soit de L-histidine et de DPH injectée 60 minutes après la L-histidine.

Temps de sacrifice en minutes	L-histidine 100 mg/kg i.p.	L-histidine : 100 mg/kg i.p. et diphénhydramine : 50 mg/kg i.p.
0	100,0 ± 5,0	
30	120,5 ± 4,8	
60	138,0 ± 10,6 [c]	
75	123,6 ± 7,5	138,7 ± 8,8 [c]
90	116,8 ± 7,5	146,0 ± 9,3 [c,d]
120	134,6 ± 5,4 [c]	132,6 ± 6,8 [c]
180	121,7 ± 12,0	122,3 ± 10,5
240	106,3 ± 7,2	

Taux d'histamine : 49,44 ± 2,34 ng/g de tissu frais ; 10 rats pour chaque détermination ;

c : variations significatives ($p < 0,05$) par rapport au taux initial d'histamine ;

d : ce résultat diffère significativement ($p < 0,05$) de celui obtenu au même temps (90 mn) après traitement par la L-histidine seule.

TABLEAU N° 22.

Taux moyens (M + Sm en ng/g de tissu frais) d'histamine observés dans les différentes régions cérébrales après administration de L-histidine (100 mg/kg i.p. ; 90 minutes) seule ou associée à la DPH (50 mg/kg i.p. ; 30 minutes).

Fractions cérébrales	L-histidine seule	L-histidine puis diphénhydramine	Témoins
Cervelet	32,0 ± 3,8	28,1 ± 1,9	32,4 ± 3,2
Cortex	52,4 ± 2,2	48,1 ± 2,8	49,9 ± 2,7
Hippocampe	47,8 ± 9,5	62,1 ± 17,2	47,7 ± 10,5
Hypothalamus	230,9 ± 26,4	400,2 ± 65,3 [b]	227,6 ± 8,2
Corps striés	60,9 ± 10,8	129,5 ± 30,4 [b]	52,7 ± 4,5
Thalamus	209,1 ± 13,4	215,7 ± 24,4	183,9 ± 15,9
Tronc cérébral	33,5 ± 3,4	47,6 ± 2,6 [b]	31,3 ± 4,3

Variations significatives par rapport aux témoins : b ($p < 0,01$) ; 36 rats par lot.

C. HISTAMINE LIBRE ET LIEE

Protocole

L'administration de DPH et de L-histidine a été effectuée suivant le même protocole que dans l'expérience précédente.

Chaque détermination comporte l'utilisation de deux cerveaux : le fractionnement est effectué selon la technique décrite au chapitre I.

Résultats

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau n° 23.

La DPH ne modifie les taux d'histamine dans aucune des deux fractions. L'augmentation provoquée par la L-histidine n'est significative que pour l'histamine liée. L'association des deux substances provoque une augmentation au niveau des deux fractions.

TABLEAU N° 23

Action de la L-histidine et de la diphenhydramine, seules ou associées, sur les taux cérébraux d'histamine libre et d'histamine liée.

Traitement préalable	Histamine liée ng/g de tissu frais ± Sm	Histamine libre n/g de tissu frais ± Sm
L-histidine 100 mg/kg (90 minutes) et Diphénhydramine 50 mg/kg (30 minutes).	38,15 ± 1,21 [a]	15,93 ± 0,55 [c]
L-histidine 100 mg/kg (90 minutes)	37,37 ± 1,16 [a]	14,24 ± 0,98
Diphénhydramine 50 mg/kg (30 minutes)	32,83 ± 0,43	12,95 ± 0,55
Témoins : soluté isotonique de chlorure de sodium (90 minutes)	31,21 ± 0,73	13,66 ± 0,62

Variations significatives par rapport aux témoins : a ($p < 0,001$) ou c($p < 0,02$). Les résultats sont la moyenne

Discussion

Nous retrouvons dans ces expériences l'augmentation des taux d'histamine provoquée par l'administration i.p. de L-histidine. Si nous comparons les modifications en fonction du temps après administration de cet acide aminé chez le rat de quatre semaines (tableau n° 7) et chez le rat adulte (tableau n° 21), nous constatons que dans les deux cas, le maximum d'augmentation des taux d'histamine est observé 60 mn après l'injection. Chez le jeune, il semblerait que les taux de l'amine redeviennent normaux plus vite que chez l'adulte. Un catabolisme plus rapide de l'histamine chez le jeune pourrait expliquer ces phénomènes.

Les taux cérébraux d'histamine observés après administration de L-histidine ne sont pas modifiés par la DPH si celle-ci est administrée avant la L-histidine. Par contre, si la DPH est administrée après l'acide aminé, l'augmentation du taux global d'histamine est plus importante qu'après L-histidine seule. Elle porte sur la forme libre de l'histamine. Comme la L-histidine provoque l'augmentation de la seule forme liée, il semble donc que la DPH soit responsable de l'augmentation de la forme libre. Cet effet peut théoriquement s'expliquer soit par une libération d'histamine soit par une inhibition de sa destruction, soit par une augmentation de sa synthèse. La seule libération de l'amine est difficilement concevable car l'augmentation du taux de forme libre ne s'accompagne pas d'une diminution de la forme liée. Cette hypothèse ne peut se justifier que dans la mesure où la libération d'histamine à partir de sa forme liée s'accompagnerait d'une augmentation compensatrice de la synthèse de l'amine au niveau des éléments figurés.

Un grand nombre de substances antihistaminiques possèdent une action inhibitrice du catabolisme de l'histamine (21) (79) (109).

La DPH pourrait aussi intervenir soit au niveau des enzymes inactivateurs de l'histamine, soit au niveau des métabolites de l'histamine, en empêchant la destruction de l'amine.

Il serait possible de penser à une modification de l'activité de l'histidinedécarboxylase par la DPH. Cet enzyme, dans les tissus sans mastocyte , possède un caractère "inducible", de ce fait il peut théoriquement, être modifié par de nombreux facteurs (100).

Il faut noter que les modifications provoquées soit par la DPH seule, soit par la DPH et la L-histidine, se manifestent au niveau de l'hypothalamus, du thalamus, des corps striés et du tronc cérébral. Ces régions sont particulièrement riches en enzymes du métabolisme de l'histamine (5) (14) (92).

L'action convulsivante de la DPH observée aux doses employées chez le rat et chez le cobaye ne semble pas en rapport avec les modifications des taux régionaux l'amine : ainsi chez le rat, il existe une diminution dans l'hypothalamus et une augmentation dans les corps striés tandis que chez le cobaye, on retrouve une augmentation dans l'hypothalamus. Il est à remarquer que le métabolisme et la sensibilité à l'histamine sont différents chez ces deux espèces (93) (102).

En résumé, nous pouvons dire que les modifications des taux régionaux d'histamine provoquées par la DPH pourraient être en rapport avec :

- une action au niveau des enzymes du métabolisme de l'amine : il faut rappeler que leurs activités varient en fonction de la région et de l'espèce animale et que certains antihistaminiques possèdent une action compétitive vis-à-vis de la N-méthylimidazoletransferase (94).

- la distribution de la DPH au niveau des différentes régions cérébrales n'est pas homogène (résultats non publiés).

- une modification du flux sanguin dans les régions cérébrales par action directe de la DPH (22) (30) (50) (51).

CONCLUSIONS GENERALES

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié une technique de purification de l'histidine cérébrale. La méthode de dosage fluorimétrique décrite par AMBROSE et coll. (4) permet son utilisation directe sur le plasma sanguin déprotéinisé. La présence de substances interférentes dans le cerveau nécessite une purification préalable au dosage. La purification proposée permet l'utilisation d'un même échantillon tissulaire pour le dosage de l'histamine et de l'histidine, nécessaire à toute étude comparative de ces deux substances.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié chez le rat :

I - La répartition et les variations ontogénétiques de l'histidine cérébrale :

- les concentrations en histidine dans le cerveau entier diminuent depuis la naissance jusqu'à l'âge de six semaines approximativement.

- cette diminution n'intervient pas de la même manière dans toutes les régions.

- il n'existe pas de rapport direct entre les variations de l'histidine et celles de l'histamine.

II - Les variations des taux cérébraux d'histamine et d'histidine après administration de L-histidine :

- l'administration intrapéritonéale de L-histidine provoque une augmentation des taux cérébraux d'histamine et d'histidine maximale une heure après l'injection.

- l'augmentation en histidine est d'autant plus grande que les animaux sont plus jeunes.

- l'augmentation en histamine est très importante à la naissance et à un jour ; après, elle est constante et faible.

- au niveau des différentes régions cérébrales, l'histidine se trouve plus augmentée dans les régions les plus riches en cet acide aminé.

- il n'existe pas de rapport direct entre les augmentations en histidine et en histamine.

Pendant l'ontogénèse au niveau régional, il existe plusieurs facteurs qui pourraient entraîner des variations des taux d'histamine. A priori, il est possible de penser aux modifications :

1 - des taux d'histidine.

2 - de l'activité histidinedécarboxylase.

3 - de l'activité des enzymes qui catabolisent l'histamine.

4 - de la perméabilité à l'histamine de la barrière hématoméningée.

1 - Taux d'Histidine

- Bien que les variations en histidine et en histamine ne soient pas en rapport direct, en général les taux de l'amine sont plus importants lorsque les taux d'histidine sont plus élevés.

Des doses croissantes de L-histidine provoquent une augmentation plus importante de l'amine (résultats non publiés).

2 - Activité histidinedécarboxylase.

Comme nous l'avons discuté (page 38), les modifications de l'activité histidinedécarboxylase au cours du développement (104) n'expliquent pas les variations ontogénétiques de l'histamine. Mais il faut remarquer que ces modifications de l'activité enzymatique, permettent d'expliquer les différentes augmentations d'histamine après administration de L-histidine, soit dans le cerveau entier au cours de l'ontogénèse, soit dans les différentes régions (92).

Il semble donc qu'il existe des différences entre le métabolisme de l'histamine endogène et le métabolisme de l'histamine formée à partir d'histidine exogène.

Dans le cerveau, il existe une activité DOPA-et 5HTP-décarboxylase avec deux localisations différentes (114 bis). Ces enzymes, au niveau périphérique, sont capables de décarboxyler l'histidine (71) (114 bis). Ces faits nous amènent à considérer qu'une décarboxylation

de l'histidine par des enzymes non spécifiques ainsi qu'une localisation double de l'activité histidindécarboxylase est possible.

ITO et coll. (60) après fractionnement par ultra-centrifugation retrouvent une activité histidinedécarboxylase, principalement dans les fractions mitochondriales et microsomales mais aussi dans le surnageant. Malheureusement, l'étude des caractéristiques de cette activité n'a pas été effectuée au niveau de chacune des différentes sous-fractions ; mais il est possible que ces caractéristiques soient différentes. Après administration de L-histidine, nous ne retrouvons d'augmentation que pour l'histamine liée. Cette action de la L-histidine, différente dans les deux fractions, permettrait de penser à un métabolisme ou à un turnover différents pour l'histamine libre et liée. D'autre part, l'activité histidine decarboxylase pourrait n'être pas due aux mêmes enzymes au cours du développement.

3 - Catabolisme de l'histamine

Nous ne connaissons pas les variations de l'activité des enzymes responsables du catabolisme de l'amine pendant l'ontogénèse. Ces modifications, si elles existent, pourraient contribuer à modifier les taux d'histamine rencontrés pendant le développement.

4 - Perméabilité de la barrière hématoméningée

Chez les animaux jeunes, la barrière hématoméningée serait perméable à l'histamine (83).

- Pendant la première semaine de la vie postnatale, les taux cérébraux l'amine sont plus élevés que les taux sanguins.

- L'administration de L-histidine ne provoque pas d'augmentation des taux sanguins de l'amine : ces faits nous permettent de penser que l'augmentation des taux cérébraux n'est vraisemblablement pas due à l'histamine périphérique, à moins d'admettre un mécanisme de transport et de captation actifs. Ce phénomène est peu probable : le tissu nerveux in vitro présente un très faible pouvoir de captation de l'histamine (78).

Dans la troisième partie, nous avons étudié chez le rat l'action de quelques agents pharmacologiques sur les taux d'histamine dans les différentes régions cérébrales. Ni la morphine, ni l'imipramine n'ont dans nos conditions expérimentales, modifié les taux de cette amine. L'inhibition du catabolisme de l'histamine par un inhibiteur de la monoamineoxydase provoque l'augmentation des taux de méthylhistamine (121). Avec la β-phenylisopropylhydrazine, cette inhibition du catabolisme ne provoque sur les taux de l'amine qu'une augmentation au niveau du thalamus.

Nous avons étudié l'action de la diphenhydramine (DPH) soit seule chez différentes espèces, soit associée à la L-histidine chez le rat.

Les antihistaminiques sont capables de libérer l'histamine mastocytaire (76) et d'inhiber les enzymes responsables du catabolisme de l'histamine : méthylmidazoletranferase et diamineoxydase (21). L'absence de mastocytes dans le cerveau de rat (2) permet de penser que l'action de la DPH sur l'histamine cérébrale serait plus vraisemblablement due à une inhibition du catabolisme de l'amine. Les effets provoqués par la DPH sur les taux régionaux de l'amine sont variables chez les espèces étudiées, rat, cobaye et lapin. Ces variations pourraient être en relation avec :

- les variations de la concentration régionale de la DPH.

- un metabolisme de l'histamine particulier à chaque espèce étudiée et à un "turnover" variable avec la région considérée.

Chez le rat :

- l'administration de DPH ne provoque aucune variation des taux d'histamine libre ou liée.

- l'administration de L-histidine provoque seulement une augmentation des taux d'histamine liée.

- l'administration de L-histidine et de DPH associées provoque par rapport aux animaux traités avec la L-histidine seule, une augmentation (12 %) de l'histamine libre. Les taux d'histamine liée ne sont pas modifiés.

L'histamine liée se trouverait protégée de l'action des enzymes du catabolisme et de la DPH. Son métabolisme serait lent.

Lorsque l'administration de L-histidine est associée à celle de la DPH, l'antihistaminique inhibe le catabolisme de l'histamine libre, formée à partir de l'histidine exogène. Le métabolisme de l'histamine libre serait plus rapide que celui de l'histamine liée.

La faible concentration en histamine libre et son métabolisme plus rapide masqueraient l'action de la DPH seule sur cette fraction.

L'histamine libre et l'histamine liée pourraient avoir un métabolisme et/ou un turnover différents. Les deux localisations différentes de l'histamine, pourrait entraîner des rôles physiologiques différents.

La mesure des modifications "in vivo" des taux d'histamine n'est qu'une approche biochimique très limitée. Pour expliquer les modifications observées, des études complémentaires sont nécessaires : mesure "in vitro" des activités enzymatiques, détermination des taux des métabolites de l'amine qui pourraient être altérés en même temps temps avec ou sans modification de l'histamine.

Vu et permis d'imprimer

Paris, le 27 Octobre 1970.

Le Doyen

A. QUEVAUVILLER.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ADAM H.M. et HYE H.K.A.

Effect of drugs on the concentration of histamine in the hypophysis and proximate parts of the brain.
J. Physiol. (Lond.) 1964, 171, 37-38 P.

2 - ADAM H.M. et HYE H.K.A.

Concentration of histamine in different parts of brain and hypophysis of cat and its modifications by drugs.
Brit. J. Pharmacol. Chemother, 1966, 28, 137-152.

3 - AGRAWAL H.C., DAVIS J.M. et HIMWICH W.A.

Postnatal changes in free amino acid pool of rat brain.
J. Neurochem., 1966, 13, 607-615.

4 - AMBROSE J.A., CRIMM A., BURTON J., PAULLIN K. et ROSS C.

Fluorimetric determination of histidine.
Clin. Chem., 1969, 15, 361-366.

5 - AXELROD J., Mc LEARN P.D., ALBERS R.W. et WEISSBACH, H.

Regional distribution of methyltransferase enzymes in the nervous system and glandular tissues.
Regional Neurochemistry, ed. Kety S.S. and Elkes, J. London : Pergamon Press, 1961.

6 - BATTISTIN L., GRYNBAUM A. et LAJTHA A.

Distribution and uptake of amino acids in various regions of the cat brain "in vitro".
J. Neurochem., 1969, 16, 1459-1468.

7 - BLANCO I., BLANCO M., DIEHL A., TILLEMENT J.P. et BOISSIER J.R.

Brain histamine levels in different animal species.
Présenté au 7e CINP. Prague, Août 1970.

8 - BLANCO I.

Dosage, répartition et variations ontogénétiques de l'histamine cérébrale.
Thèse Pharmacie, Paris 1970, Ed. Copédith. Paris.

9 - BLOCK R.J.

Chemical studies on the neuroproteins II. The effect of age on the amino acid composition of human and mammalian brain proteins.
J. Biol. Chem., 1937, 120, 467-470.

10 - BOGDANOVA E.V. et TOLKACHERO G.M.

The level of free aminoacids in the brain tissue of rat at various ages.
Zn. evol. Biokhim. Fiziol. S.S.S.R., 1968, 4, 37-41.

11 - BOISSIER J.R., GUERNET M., TILLEMENT J.P., BLANCO I. et BLANCO M.

La répartition de l'histamine dans le cerveau de rat.
C.R. Acad. Sc. Paris, 1969, 269, 929-930.

12 - BOISSIER J.R., GUERNET M., TILLEMENT J.P., BLANCO I. et BLANCO M.

Dosage chimique de l'histamine dans le cerveau entier de rat.
C.R. Acad. Sc. Paris, 1969, 268, 1448-1450.

13 - BOLINDER A.E.

Plate assay methods for aminoacids. 10. Arginine and histidine.
Acta Pharm. Suecica, 1970, 7, 113-124.

14 - BROWN D.D., TOMCHICK R. et AXELROD J.

The distribution and properties of the histamine methylating enzyme.
J. Biol. Chem., 1959, 234, 2448-2950.

15 - CAMPOS H.A. et JURUPE H.

A histamine dependent increase of 5-hydroxytryptamine in the rat brain in vivo.
Experientia, 1970, 26, 613-614.

16 - CARVER M.J.

Free amino acids of foetal brain. Influence of the branched chain amino acids.
J. Neurochem., 1969, 16, 113-116.

17 - CHURCHIL J.A. et GAMMON G.D.

The effect of antihistaminic drugs on convulsive seizures.
J. Amer. Med. Ass., 1948, 141, 18.

18 - CHUSID J.C., KOPELOFF L.M. et KOPELOFF N.

Convulsant action of antihistamines in monkeys
J. Appl. Physiol., 1956, 9, 271-274.

19 - CLOUET D.M. et GAITONDE M.K.

The changes with age in the protein composition of the rat brain.
J. Neurochem., 1956, 1, 126-133.

20 - CLOUET D.H., GAITONDE M.K. et RICHTER D.

The free histidine, histamine, and arginine content of the rat brain.
J. Neurochem., 1957, 1, 228-233.

21 - COHN V.H. et WYNN W.

Inhibition of histamine metabolism by antihistaminic drugs.
Fed. Proc., 1968, 27, 243.

22 - CONARD V.

Action des antihistaminiques de synthèse sur la circulation capillaire au niveau du péritoine chez le rat.
Comp. Rend. Soc. Biol., 1951, 145, 1875.

23 - CONNEY A.H.

Enzyme induction and drug toxicity.
Drugs and Enzymes. Vol. 4, 1965, 276-297.
Ed. Brodie B.B. et Gillette J.R.

24 - CRAGIE E.H.

I - On the relative vascularity of various part of the central nervous system of the albino rat.
J. Comp. Neurol., 1920, 81, 429-464.

25 - CRAIGIE E.H.

Vascular patterns of the developing nervous system.
Biochemistry of the developing nervous system, 1955, 28-51.
Academic Press, New-York. Ed. H. Waelsch.

26 - DOMENJOZ R. et THEOBALD W.

Zur Pharmakologie des Tofranil R (N (3 dimethylaminopropyl), iminodibenzyl hydrochloride).
Arch. Int. Pharmacodyn., 1959, 120, 450.

27 - DONIER F.R.

Effects of histamine on potassium exchange between the blood and cerebrospinal fluid.
Exp. Neurol., 1969, 24, 65-75.

28 - ERTINGSHAUSEN G., ADLER H.J. et REICHLER A.S.

Fully automated high-speed ion-exchange chromatography of amino acids.
J. Chromatog., 1969, 42, 355-366.

29 - FOLBERGROVA J.

Incorporation of labelled aminoacids into the proteins of brain cortex slices "in vitro" in the presence of other non radioactive amino-acids.
J. Neurochem., 1966, 13, 553-555.

30 - FURUKAWA T.

Effect of histamine on microcirculation and influence of diphenhydramine on that.
Jap. J. Pharmacol., 1964, 14, 474-475.

31 - GAITONDE M.K. et MARTENSON R.E.

Metabolism of highly basic proteins of rat brain during postnatal development.
J. Neurochem., 1970, 17, 551-563.

32 - GALE E.F.

Methods of enzymatic analysis
Ed. H.U. Bergmeger.
Academic Press, New-York , 1963.

33 - GARATTINI S. et JORI A.

Interaction between imipramine-like drugs and reserpine on body temperature..
1st International Symposium on antidepressant drugs. Milan, April 1966. Ed : S. GARATTINI, M.N.G. DUKES Excepta Medica Foundation.

34 - GARNOT P.O., ROSENGREN A.M. et ROSENGREN E.

On the presence of different histidine decarboxylating enzymes in mamalian tissues.
Experientia, 1961, 17, 263-263.

35 - GERBER D.A.

Determination of histidine in serum with o-Phtaldialdehyde.
Anal. Biochem., 1970, 34, 2, 800-804.

36 - GLOWINSKI L. et IVERSEN L.L.

Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The disposition of (^{3}H) norepinephine, (^{3}H) dopamine and (^{3}H) DOPA in various regions of the rat brain.
J. Neurochem., 1966, 13, 665-669.

37 - GORNICKI B., BOZKOWA K., KURREPA K., CAGALSKA B., RUTKOWSKA A., LAMBERT I., GRODZKA Z., DUCZYNSKA N., PADZID H., CZYPRYNA A. et SUSLOW I.

Studies on behavior of protein fractions and the aminoacid structure of the nervous system in ontogenic development.
Polish Med. Hist., Sci. Bull., 1963, 6, 18-20.

38 - GRAHAM J.D.P.

A comparison of some antihistamine substances.
J. Pharm. and Exper. Therap., 1947, 91-103.

39 - GREEN H. et ERICKSON R.W.

Effect of some drugs upon rat brain histamine content.
Int. J. Neuropharmac., 1964, 3, 315-320.

40 - GREEN H. et ERICKSON R.W.

Effects of some drugs upon the histamine concentration of Guinea Pig brain.
Arch. int. Pharmacodyn. Ther., 1967, 166, 121-126.

41 - GREEN J.P.

Histamine and the nervous system.
Fed. Proc., 1964, 23, 1095-1102.

42 - GROMAKOVSKAYA M.M.

Role of histamine in changing the permeability of the blood brain barrier, and functional state of anatomic center during muscle fatigue.
Razv. Regul. Gisto-Gennaticheskikh Barlerov, 1967, 76-85.

43 - GRUHZIT O.M. et FISKEN R.A.

A toxicologic study of two histamine antagonists of the benzhydryl alkamine ether group.
J. Pharmacol., 1947, 89, 227-233.

44 - GUTMAN J.

The intracellular distribution of brain catecholamines.
J. Neurochem., 1967, 14, 619-625.

45 - GYERMEK L.

The pharmacology of imipramine and related antidepressants.
Int. Rev. Neurobiol., 1966, 9, 95-143.

46 - HAAVALDZEN R.

Transamination of aromatic aminoacids in nervous tissue.
Nature, 1962, 196, 577-578.

47 - HÅKANSON R.

Kinetic properties of mammalian histidine decarboxylase.
Europ. J. Pharmacol., 1967, 1, 42-64.

48 - HÅKANSON R.

Histamine forming isoenzymes in the foetal and adult mou
Europ. J. Pharmacol., 1967, 1, 34-41.

49 - HÅKANSON R.

Histidin decarboxylase in the fetal rat.
Biochem. Pharmacol., 1963, 12, 1289-1296.

50 - HALEY T.J. et HARRIS D.H.

The effect of topically applied antihistaminic drugs on the mammalian capillary bed.
J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1949, 95, 293.

51 - HALEY T.J. et ANDEN M.R.

The effect of several new antihistaminic drugs on the mammalian capillary bed.
J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1949, 100, 393.

52 - HALPERN B.N., NEVEU T. et WILSON C.W.M.

The distribution and fate of radioactive histamine in the rat.
J. Physiol. (London), 1959, 147, 437.

53 - HANKOFF L.D. et GRUNDLACH R.H.

Diphenhydramine as an antidepressant.
Diseases Nervous System, 1964, 23, 547-553.

54 - HASSALL H.

Specific method for estimation of L-histidine using L-histidine-ammoniac-lyase.
Anal. Biochem., 1970, 35, 335-345.

55 - HEINRICH M.A. (Jr.)

The effect of the antihistaminic drugs on the central nervous system in rats and mice.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1953, 92, 444-463.

56 - HEINRICH M.A. (Jr.)

Central depression of the antihistaminics.
Fed. Proc., 1951, 10, 307.

57 - HIMWICH W.A.

Biochemical and neurophysiological development of the brain in the neonatal period.
Int. Rev. Neurobiol., 1942, 4, 117-158.

58 - HIMWICH W.A. et AGRAWAL M.C.

Amino acids
Handbook of Neurochemistry, vol.I, Chap. 3, 33-52.
Plemm Press, New-York, 1969.

59 - HOLTZ P., et WESTERMANN E.

Uber die Dopa-decarboxylase und Histidindecarboxylase des Nervengewebes. Naunyn-Schmiedeberg's. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1956, 227, 538-548.

60 - ITO T. et KAWAAI M.

Biochemical studies on histamine . I. Intracellular distribution of histidine decarboxylase and histaminase. Nihon Univ. J. Med., 1959, 1, 185-190.

61 - JONSON B. et WHITE T.

Histamine metabolism in the brain of conscious cats. Proc. Soc. Exp. Biol. NY, 1964, 115, 874-876.

62 - KAHLSON G., ROSENGREN E. et WHITE T.

Formation of histamine by the foetus in the rat and man. J. Physiol. (London), 1959, 145, 30-31 P.

63 - KAHLSON G., ROSENGREN E. et WHITE T.

The formation of histamine in rat foetus. J. Physiol. (Lond.), 1960, 151, 131- 138.

64 - KAHLSON G.

A place for histamine in normal physiology. Lancet 1960, I, 67.

65 - KAMIN H. et HANOLER P.

The metabolism of parenterally administered aminoacids. II Urea synthesis. J. Biol. Chem., 1951, 188, 193-205.

66 - KANDERA J., LEVI G. et LAJTHA A.

Control of cerebral metabolite levels II. Amino acid uptake and levels in various areas of the rat brain. Arch. Biochem., 1968, 126, 249-260.

67 - KATAOKA M. et DE ROBERTIS E.

Histamine in isolated small nerve endings and synaptic vesicales of rat brain cortex. J. Pharmacol. Exper. Therap., 1967, 156, 114-125.

68 - LECOMTE J.

Sur quelques propriétés neurotropes de l'histamine.
Rev. Belge Pathol. Méd. Expér., 1960, 27, 291-295.

69 - LEVI G., KANDERA J. et LAJTHA A.

Control of cerebral metabolite levels
I. Amino acid uptake and levels in various species.
Arch. Biochem., 1967, 119, 303-311.

70 - LINDBERG S., LINDELL S.E. et WESTLING H.

Formation and activation of histamine by human foetal tissue in vitro.
Acta Obst. Gynecol. Scand., 1963, 42, suppl. 1, 49-57.

71 - LOVENBERG W. , WEISSBACH H. et UNDENFRIEND S.

Uromatic L-amino acid decarboxylase
J. Biol. Chem., 1962, 237, 89-93.

72 - Mc ILWAIN A.

Biochemistry of the developing nervous system.
Ed. J. and A. Churchill LTD, 1966, 290-299.

73 - MAKOFF R. et BADDRIDGE R.C.

Metabolism of histidine. Liver enzymes changes during development.
Biochem. Biophys. Acta, 1964, 90, 282-286.

74 - MONNIER M., et MATT A.M.

Afferent and central activating effects of histamine on the brain.
Experientia, 1969, 25, 1297-1298.

75 - MOORE S. et STEIN W.

Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four per cent cross-linked sulfonated polystyrene resins.
J. Biol. Chem., 1954, 211, 893-906.

76 - MOTA I., DIAS DA SILVA W.

The anti-anaphylactic and histamine-releasing properties of the antihistamines. Their effect on the mast cells.
Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, 396-404.

77 - NAITO T. et KURIAKI K.

Die Verteilung der Histidindecarboxylase in Verschiedenen gebeiten des Zentralnervensystems und Effecte liniger Narkotica und Analeptica auf die Enzymaktivitat.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch, Exptl. Pathol. Pharmakol., 1958, 232, 481-486.

78 - NEAME K.D.

Uptake of histidine, histamine and others imidazole derivatives by brain stress.
J. Neurochem., 1964, 11, 655-662.

79 - NETTER K.J. et BODENSCHATZ K.

Inhibition of histamine-N-methylation by some antihistamines.
Biochem. Pharmacol., 1967, 16, 1627-1631.

80 - OJA S.S. et PIHA R.R.

Changes in the concentration of free amino acids in the rat brain during post-natal development.
Life Sci., 1966, 5, 865-870.

81 - OJA S.

Studies on protein metabolism in developing rat brain.
Ann. Acad. Sci. Fenn. A-5, 1967, 131, 1-81.

82 - OJA S.S., JUSITALO A., VAHVALAINEN M.R. et PIHA K.S.

Changes in cerebral and hepatic amino acids in the rat and guinea-pig during development.
Brain Res., 1968, 11, 655-661.

83 - PEARCE L.A. et SCHANBERG S.M.

Histamine and spermidine content in brain during development.
Science, 1969, 166, 1301-1304.

84 - PIHA R.S., BERGSTRÖM R.M., BERGSTRÖM L., JUSITALO A.J. et OSA S.S.

Studies in the metabolism of brain proteins. I - the metabolic turnover rate of brain proteins in the normal rat.
Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., 1963, 41, 485-497.

85 - PISANO J.J.

Peptides,
Handbook of Neurochemistry, I, 1969, 53-74. Plenum press 1969, New-York, ed. A. Lajtha.

86 - PLICHET A.

Les nouveaux antihistaminiques de synthèse (américains).
Presse Médicale, 1947, 55, 232-233.

87 - PRAVDICH-NEMINSKAIA T.V.

On the possible role of imidazol-compounds in nerve activity processes (exemplified by histamine).
Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 1969, 186, 6, 1452.

88 - RAULT B.

Contribution à l'étude de l'action psycholeptique expérimentale des antihistaminiques.
Thèse Pharmacie, Paris 1969.

89 - REILLY M.A. et SCHAYER R.W.

Histamine (H) formation and catabolism in mouse brain.
Fed. Proc., 1970, 29, 617.

90 - ROBINSON J.D. Jr. et GREEN J.P.

Presence of imidazoleacetic acid riboside and ribotide in rat tissues.
Nature, 1964, 203, 1178-1179.

91 - RÖNNBERG A. et SCHWARTZ J. C.

Répartition régionale de l'histamine dans le cerveau de rat.
C.R. Acad. Sci. Paris, 12 mai 1969, 268, 2376-2379.

92 - RÖNNBERG A.

Travaux sous presse.

93 - SCHAYER R.W.

The metabolism of histamine in various species.
Br. J. Pharmac. Chimother., 1956, 11, 472-473.

94 - SCHAYER R.W.

Formation and binding of histamine by rat tissues in vitro.
Amer. J. Physiol., 1956, 187, 63-65.

95 - SCHAYER R.W.

Histidine decarboxylase of rat stomach and other mammalian tissues.
Am. J. Physiol., 1957, 189, 533-536.

96 - SCHAYER R.W.

Further evidence that pyridoxal phosphate is the coenzyme of mammalian histidine decarboxylase.
Fed. Proc., 1959, 18, 317.

97 - SCHAYER R.W. et GANLEY O.H.

Adaptative increase in mammalian histidine decarboxylase activity in response to non specific stress.
Amer. J. Physiol., 1959, 197, 721.

98 - SCHAYER R.W.

Relationship of induced histidine decarboxylase activity and histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin.
Amer. J. Physiol., 1960, 198, 1187.

99 - SCHAYER R.W.

Significance of induced synthesis of histamine in physiology and pathology.
Chemotherapy, 1961, 3, 128-136.

100 - SCHAYER R.W.

Evidence that induced histamine as an intimistic regulator of the microcirculatory system.
Amer. J. Physiol., 1962, 202, 66-72.

101 - SCHAYER R.W.

Induced synthesis of histamine, microcirculatory regulation and the mechanism of action of adrenaliglucocorticoïd hormones.
Progress in Allergy, 1963, 2, 187.

102 - SCHAYER R.W.

Catabolism of histamine in vivo.
Hankbook of experimental pharmacology, vol. 18, Part I, 1966, 672-683.

103 - SCHAYER R.W.

Enzymatic formation of histamine from histidine.
Handbook of experimental pharmacology, vol. 18, part I, 1966, 688-725.

104 - SCHWARTZ J.C., LAMPART C., ROSE C., BISCHOFF S. et RENAULT M.C.

Histamine formation in the rat brain.
Com. Présentée au 7e CINP, Prague, Août 1970.

105 - SEAKINS J.W.T., HOLTON J.B.

Histidinemia.
Biochem. J., 1969, 111, 4-6.

106 - SHAW R.K. et HEINE J.D.

Nynhydin positive substances present in different areas of normal rat brain.
J. Neurochem., 1965, 12, 151-155.

107 - SHORE P.A., BURKHALTER A. et COHN V.H.

A method for the fluorometric assay of histamine in tissues.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1959, 127, 182-186.

108 - SHORE P.A. et COHN V.H.

Comparative effects of monoamineoxydase inhibitors on monoamine oxidase and diamine oxidase.
Biochem. Pharmac., 1960, 5, 91-95.

109 - SNYDER S.H. et AXELROD J.

Inhibition of histamine methylation in vivo by drugs.
Biochem. Pharmacol., 1964, 13, 536-537.

110 - SNYDER S.H., GLOWINSKI J. et AXELROD J.

The Physiologic disposition of 3_H histamine in the rat brain.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1966, 153, 1, 8-14.

111 - SNYDER S.H., AXELROD J. et BAUER H.

The fate of ^{14}C histamine in animal tissues.
J. Pharm. Exp. Therap., 1964, 144, 373-379.

112 - THARP B.R.

The 6-per second spike and wave complex.
Arch. Neurol., 1966, 15, 533-537.

113 - THEOBALD W., BÜCH O. et KUNZ M.A.

Vergleichende untersuchnengen über die beeinglusung vegetativer funktionen durch psychopharmaka im akuten tierversuch.
Arznei. Forch., 1965, 15, 117-125.

114 - THOMPSON W.L. et WALTON R.P.

Elevation of plasma histamine levels in the dog following administration of muscle relaxants, opiates and macromolecular polymers.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1964, 143, 131-136.

114 Bis - UNDENFRIEND S.

Amino acid decarboxylation steps in the biosynthesis of norepinephrine, serotonin and histamine.
Vitamins and Hormones, 1964, 22, 445-50.

115 - VLADIMIROV G.E.

Blood brain barrier as a factor hindering the investigation of incorporation of ^{32}P into adenosine triphosphate and phosphocreatine.
Biochemistry of the developing nervous system. 1956, Academic Press 218-222. Ed. H. Waelsch.

116 - WAISMAM H.A.

Variation in clinical and laboratory findings in histidinemia.
Amer. J. Dis. Child, 1967, 113, 93-94.

117 - WAELSCH H.

The turn over of components of the developing brain ; the blood-brain barrier
Biochemistry of the developing nervous system, Academic Press, 1955, 187-201. Ed. H. Waelsch H.

118 - WEIDMANN H. et PATERSEN P.V.

A new group of potent sedatives
J. Pharm. exptl. Therap., 1953, 108, 201-216.

119 - WEISSBACH H., LOVENBERG W. et UNDEFRIEND S.

Characteristics of mammalian histidine-decarboxylating enzymes.
Biochem. Biophys. Acta, 1961, 50, 177-179.

120 - WHITE T.

Formation and catabolism of histamine in brain tissue in vitro.
J. Physiol. (Lond.), 1959, 149, 34-42.

121 - WHITE T.

Histamine and methylhistamine in cat brain and other tissues.
Br. J. Pharmac. Chemother., 1966, 26, 494-501.

122 - WHITE T.

Biosynthesis, metabolism, and function of histamine in the nervous tissue.
Fed. Proc., 1964, 23, 1103-1106.

123 - WHITE T.

Formation and catabolism of histamine in cat brain in vivo.
J. Physiol (Lond.), 1960, 152, 299-308.

124 - WINTER C.A.

The potentiating effect of antihistamine drugs upon the sedative action of barbiturates.
J. Pharm. exptl. Therap., 1948, 94, 7-11.